

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

По направлению Фундаментальная и Прикладная химия

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

**ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
МОНОЭФИРОВ ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ**

Студентка 5 курса

Фахретдинова Лилия Ниязовна

Уровень/ступень образования:

Специалитет

Заведующий кафедрой

д.х.н., проф. Кузнецов Михаил Анатольевич

Научный руководитель

д.х.н., проф. Зенкевич Игорь Георгиевич

Санкт-Петербург

2016 г.

Содержание

Список использованных сокращений	3
Введение	4
Цель и задачи	6
1 Обзор литературы	7
1.1. Дикарбоновые кислоты	7
1.2. Применение дизамещенных эфиров дикарбоновых кислот	9
1.3. Обзор токсичности	11
1.4. Аналитические параметры	13
2. Экспериментальная часть.....	16
2.1. Синтез эфиров фталевой и малоновой кислот	16
2.2. Хроматографический анализ	18
2.3 Математическая обработка	21
3 Обсуждение результатов	22
3.1. Высокоэффективная жидкостная хроматография в обращенно-фазовом режиме	22
3.2. Хромато-масс-спектрометрия.....	27
3.2.1. Параметры удерживания	32
3.2.2. Масс-спектрометрическая характеристика	41
3.2.3. Термическая нестабильность	43
Выводы и результаты.....	49
Список литературы	51

Список использованных сокращений

DMP – диметилфталат

DEP – диэтилфталат

MBP – монобутилфталат

DBP – дибутилфталат

DIBP – диизобутилфталат

DCHP – дициклогексилфталат

MEHP – моно(2-этилгексил)фталат

DEHP – ди(2-этилгексил)фталат

DINP – диизононилфталат

DIDP – диизодецилфталат

BBP – бутилбензилфталат

Введение

Любого из нас окружают материалы, содержащие эфиры дикарбоновых кислот. Они используются в различных отраслях промышленности – как пластификаторы в полимерных композициях и резине, при производстве строительных материалов, растворителей, для получения синтетических тканей. Широко применяются эфиры алифатических двухосновных карбоновых кислот, а также фталевой и фумаровой кислот.

Их первичными метаболитами и побочными продуктами в ходе реакции этерификации являются моноэфиры, однако при их идентификации возникают сложности, связанные с отсутствием необходимой совокупности аналитических параметров, т.е. стандартных масс-спектров, а также индексов удерживания на стандартных неполярных фазах. Следствием этого являются встречающиеся в литературе ошибки идентификации, что особенно характерно для моноалкилфталатов (видимо, это связано с обширным применением эфиров 1,2-бензолдикарбоновой (фталевой) кислоты).

Также нами было обнаружено, что моноэфиры могут образовываться в испарителе в момент ввода пробы в ходе газохроматографического анализа в растворителе, содержащем активные атомы водорода. Это явление наблюдалось для первого соединения гомологического ряда алифатических дикарбоновых кислот – этандиовой (щавелевой) кислоты при использовании изопропилового спирта в качестве растворителя.

Литературный обзор включает рассмотрение применения и свойств дикарбоновых кислот, их дизамещенных и монозамещенных эфиров. Также были изучены те физико-химические параметры и аналитические параметры моноэфиров, которые имеют отношение и могут быть использованы для хромато-масс-спектрометрической идентификации.

Были охарактеризованы ранее не изученные моноэфиры 1,2-бензолдикарбоновой (фталевой) и *цис*-бутендиовой (малеиновой) кислот. Для них были определены индексы удерживания на стандартной неполярной

неподвижной фазе и стандартные масс-спектры. Также найдена корреляция между определенными параметрами и индексами удерживания структурных аналогов, позволяющая проверять впервые определенные значения, а также предсказывать их для неохарактеризованных соединений.

Также была выявлена особенность газохроматографического разделения моноалкилфталатов – впервые было обнаружено, что они нестабильны в условиях газохроматографического анализа и разлагаются с образованием фталевого ангидрида.

Содержание настоящей дипломной работы составило предмет 3 статей (также 2 статьи в печати) и 4 сообщения на Всероссийских и международных конференциях.

Цель

Охарактеризовать новую группу моноэфиров 1,2-бензолдикарбоновой (фталевой) и *цис*-бутендиовой (малеиновой) кислот.

Задачи

1. Определить хроматографические индексы удерживания на стандартной неполярной неподвижной фазе моноэфиров 1,2-бензолдикарбоновой (фталевой) и *цис*-бутендиовой (малеиновой) кислот соединений и охарактеризовать их стандартными масс-спектрами;
2. Выявить способы использования газохроматографических индексов удерживания структурных аналогов для контроля и вычисления индексов удерживания моноэфиров дикарбоновых кислот;
3. Определить индексы удерживания моноэфиров в обращенно-фазовом режиме ВЭЖХ; оценить зависимость индексов удерживания в обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии от состава элюента.

1. Обзор литературы

1.1. Дикарбоновые кислоты

Дикарбоновые кислоты используют для получения полиамидов и полиэфиров (самые известные - капрон и полиэтилентерефталат). В некоторых литературных источниках отмечена возможность их газохроматографического определения без дериватизации (получения более летучих производных). Однако проверка такой информации показала, что только для некоторых дикарбоновых кислот возможен прямой газохроматографический анализ, несмотря на то, что данные соединения содержат два активных атома водорода в карбоксильных группах. Нами были проанализированы несколько представителей этого класса соединений – этандиовая (щавелевая), пропандиовая (малоновая), бутандиовая (янтарная), пентандиовая (глутаровая) кислоты. В случае глутаровой кислоты на хроматограмме был обнаружен ассиметричный пик самой кислоты. Наиболее примечательным оказалось поведение щавелевой кислоты – оказалось, что щавелевая кислота при взаимодействии с растворителем, содержащим активный атом водорода (в работе использовался пропанол-2), способна образовывать эфиры в момент дозирования пробы в нагретый испаритель. При анализе щавелевой кислоты на хроматограмме появлялись сигналы моноизопропилоксалата и диизопропилоксалата (рис. 1.2) [1-4]. Видимо, это связано с тем, что щавелевая кислота более кислая по сравнению со своими гомологами (выше значение константы диссоциации по I ступени, что показано в табл. 1.1).

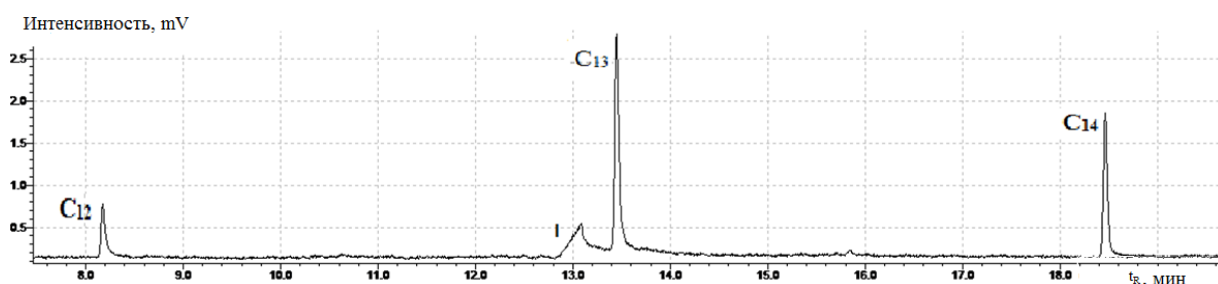


Рис. 1.1. Фрагмент хроматограммы глутаровой кислоты. I – сигнал непосредственно кислоты C₁₂, C₁₃, C₁₄ – реперные *n*-алканы

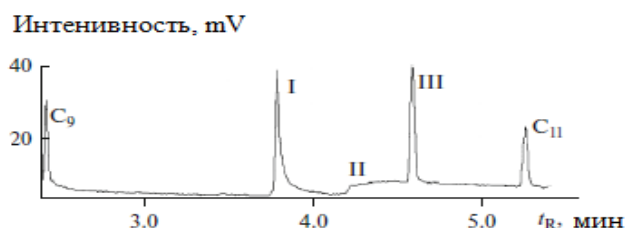


Рис. 1.2. Фрагмент хроматограммы щавелевой кислоты, растворитель – изопропиловый спирт: I – моноизопропилоксалат, III – диизопропилоксалат, II – сигнал щавелевой кислоты с невоспроизводимым положением переднего фронта, C₉, C₁₁ – реперные *n*-алканы

Табл. 1.1 Значения констант диссоциации по I и II ступени для алкандикарбоновых кислот, для сравнения приведены значения констант для *o*-фталевой, малеиновой и фумаровой кислот.

Тривиальное название кислоты	Систематическое название кислоты	Химическая структура	pK _{a1}	pK _{a2}
Щавелевая	Этандиовая	HOOC—COOH	1.27	4.23
Малоновая	Пропандиовая	HOOC—CH ₂ —COOH	2.87	5.70
Янтарная	Бутандиовая	HOOC—(CH ₂) ₂ —COOH	4.16	5.61
Глутаровая	Пентандиовая	HOOC—(CH ₂) ₃ —COOH	4.34	5.27
Адипиновая	Гександиовая	HOOC—(CH ₂) ₄ —COOH	4.26	5.30
Себациновая	Декандиовая	HOOC—(CH ₂) ₈ —COOH	4.62	5.59
Фталевая	Бензол-1,2-дикарбоновая	HOOC—(C ₆ H ₄)—COOH	3.54	4.46
Малеиновая	Цис-бутендиовая	HOOC—(CH=CH)—COOH	1.9	6.07
Фумаровая	Транс-бутендиовая	HOOC—(CH=CH)—COOH	3.03	4.44

1.2 Применение дизамещенных эфиров дикарбоновых кислот

Большая доля эфиров дикарбоновых кислот используется в качестве пластификаторов для придания пластмассам необходимых свойств, например эластичности и (или) пластичности, морозостойкости, иногда огне-, свето- и термостойкости.

Всего выделяют несколько групп пластификаторов:

- 1) сложные эфиры (фталаты, фосфаты и др.);
- 2) углеводороды и их производные;
- 3) растительные масла и продукты их модификации.

Количество пластификаторов в матрице варьируют от 1 до 40% массовой доли [5].

Наибольшее промышленное применение в качестве пластификаторов полимеров нашли сложные эфиры. Причем примерно 93% всех пластификаторов являются фталаты [6].

Наиболее крупным потребителем пластификаторов является производство гибкого поливинилхлорида (ПВХ) — 80-85 %, далее: поливинилацетата - 4,5 %, целлюлозы - 4 % и синтетического каучука - 2 %. Лакокрасочная промышленность применяет в качестве пластификаторов в основном сложные эфиры.

Из сложных эфиров наибольший практический интерес представляют эфиры фталевой кислоты (фталаты), фосфорной кислоты (фосфаты), себаценовой кислоты (себацены) и адипиновой кислоты (адипины).

Основные представители фталатных пластификаторов:

DMP— применяют для пластификации поливинилацетата, резины, пластмасс, ацетилцеллюлозных лаков.

DEP — применяют в качестве пластификатора для нитроцеллюлозных и этилцеллюлозных лаков и пластмасс.

DBP — применяется для пластификации поливинилхлорида и его сополимеров, нитроцеллюлозы, ацетобутираля, полистирола, полиметилметакрилата, поливинилацетата, синтетического каучука.

DOP — применяется для пластификации поливинилхлорида и его сополимеров, полистирола, поливинилбутираля, смешанных и простых эфиров целлюлозы.

Также фталаты, например, DEHP, DINP, DIDP , используются при изготовлении напольных покрытий, строительных материалов и при обработке материалов[7].

Фталаты нашли широкое применение благодаря хорошей стабильности, способности придавать полимерам морозостойкость и высокие диэлектрические показатели. Однако в связи с токсичностью (см. раздел 2.3) предлагаются к использованию альтернативные пластификаторы. В различных исследованиях о возможности применения производных 1,3-пропандиола в качестве пластификаторов. Так, авторы патента [8] предлагают способ очистки сложного эфира пивалиновой кислоты и вышеупомянутого спирта, который является исходным материалом для синтетических смол и пластификаторов.

1.3. Обзор токсичности

Фталаты применяются в течение 50 лет [9]. Но сейчас, несмотря на обширное использование в настоящее время, результаты множества исследований демонстрируют их токсическое воздействие на организм человека и млекопитающих. Им приписывают вредное воздействие на функционирование эндокринной системы [10-12]. В частности, по результатам исследования [13] использование эфиров фталевой кислоты, имитирующих строение эстрогенов, в производстве косметических продуктов увеличивает тенденцию к преждевременному половому созреванию девочек – возраст контрольной группы от 6 месяцев до 10 лет. Фталаты действуют угнетающе на репродуктивную систему [14-17]. В этом отношении наиболее уязвимы мужские особи - клетки Сертоли¹ особенно подвержены токсическому воздействию фталатов [18,19].

Ди(2-этилгексил)фталат и моно-*n*-бутилфталат обладают канцерогенным и тератогенным свойствами для животных, и их аккумуляция при беременности может привести к порокам развития и даже смерти плода, что доказано экспериментами на животных (17, 20, 21).

Фталаты не связаны с матрицей химически, поэтому легко могут выделяться в окружающую среду и попадать в живые организмы вместе с пищей, при вдыхании распыленных аэрозолей, а также при контакте кожи с материалами и продукцией, содержащими такие эфиры. Вклад каждого из этих путей на сегодняшний день неизвестен [22].

В связи с этим различные организации, в том числе Европейский союз (ЕС), говорят о необходимости запрета использования фталатов в игрушках и

¹ Соматические клетки, расположенные в извитых канальцах семенников млекопитающих, они ответственны за метаболическую и структурную поддержку развивающихся зародышевых клеток, а также защищают их от иммунологической атаки.

косметических средствах. При этом из 9 проанализированных фталатов (DMP, DEP, DIBP, DCHP, DINP, DIDP, DEHP, DBP и BBP) ЕС в соответствии с мнением Европейского агентства по безопасности продуктов питания (EFSA) запретил к использованию ди-*n*-бутил фталат, бутилбензилфталат и ди-2-этилгексилфталат [23].

Попадая в организм, диэфиры фталевой кислоты под действием фермента(ов) группы эстераз превращаются в моноэфиры, которые способны к дальнейшему метаболизму [24, 25]. При этом известно, что первичные метаболиты обладают бóльшей токсичностью по сравнению с диэфирами, что установлено на примере МЕНР и ДЕНР лабораторными исследованиями взрослых особей грызунов [26].

Также монофумараты более активны при лечении некоторых заболеваний, чем дифумараты. Фумараты применяются в Германии и США при псориазе и рассеянном склерозе. Также предполагается их использовать для применения при лечении широкого ряда иммунологических, аутоиммунных и воспалительных заболеваний. При этом монофумараты обладают большей биодоступностью, чем дифумараты, о чем говорят авторы патента [27], предлагающие использовать смесь монометилфумарата и диметилфумарата в качестве пролекарства при лечении заболеваний, перечисленных выше.

1.4. Аналитические параметры

Приведенные в табл. 1.2 значения индексов удерживания монозамещенных эфиров фталевой кислоты. Их значения, за исключением монобутилового эфира, были определены У. Лянгом [28]. Значение индекса удерживания для монобутилфталата, определенное в работе [29] представляется ошибочным и требует проверки, поскольку, согласно аддитивной схеме, $RI(C_4) = (1731+1926)/2 = 1829$. Масс-спектры в базе NIST приведены только для эфиров низших спиртов - метил-, этил-, и монобутилфталатов. Мономалеаты на сегодняшний день не охарактеризованы аналитическими параметрами.

Табл. 1.2. Характеристика монозамещенных эфиров фталевой кислоты [30]

RI	CAS #	RI	Масс-спектр
CH ₃	4376-18-5	-	Mc
C ₂ H ₅	2306-33-4	1651	Mc
<i>n</i> -C ₃ H ₇		1731	-
CH(CH ₃) ₂	35118-50-4	1667	-
CH ₂ -CH=CH ₂	3882-14-2	1723	-
<i>n</i> -C ₄ H ₉	131-70-4	1520	Mc
<i>изо</i> -C ₄ H ₉	30833-53-5	1771	-
<i>втор</i> - C ₄ H ₉	-	-	-
<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	24539-56-8	1926	-
2- C ₅ H ₁₁	158703-44-7	1842	-
<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	24539-57-9	2023	-
<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	24539-58-0	2128	-
CH(CH ₃)C ₅ H ₁₁	-	-	-
<i>n</i> -C ₈ H ₁₇	5393-19-1	2236	-
CH(CH ₃)C ₆ H ₁₃	68296-97-9	2143	-

Для дизамещенных эфиров фталевой кислоты (табл. 1.3) и малеиновой кислоты (табл. 1.4) приведены в базе данных NIST аналитические параметры для всех низших гомологов C₁-C₄.

Табл. 1.3. Характеристика дизамещенных эфиров фталевой кислоты [30]

R	CAS #	RI	Масс-спектр
CH ₃	131-11-3	1417-1458	Mc
C ₂ H ₅	84-66-2	1551-1587	Mc
<i>n</i> -C ₃ H ₇	131-16-8	1743-1758	-
CH(CH ₃) ₂	605-45-8	1633-1641	-
CH ₂ -CH=CH ₂	131-17-9	1692-1712	Mc
<i>n</i> -C ₄ H ₉	84-74-2	1922-1940	Mc
<i>втор</i> - C ₄ H ₉	4489-61-6	-	-
<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	131-18-0	2020-2136	Mc
<i>изо</i> -C ₅ H ₁₁	605-50-5	2025, 2116	-
<i>n</i> -C ₆ H ₁₃	84-75-3	2281-2331	Mc
<i>n</i> -C ₇ H ₁₅	3648-21-3	2485-2500	Mc
<i>n</i> -C ₈ H ₁₇	117-84-0	2685 -2741	Mc
CH(CH ₃)C ₆ H ₁₃	131-15-7	-	-

Табл. 1.4. Характеристика дизамещенных эфиров малеиновой кислоты [30]

R	CAS #	RI	Масс-спектр
CH ₃	624-48-6	978-984	Mc
C ₂ H ₅	141-05-9	1077-1130	Mc
<i>n</i> -C ₃ H ₇	2432-63-5	1360[31]	-
CH(CH ₃) ₂	10099-70-4	-	Mc
<i>n</i> -C ₄ H ₉	105-76-0	1505-1505	Mc
CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	14447-12-2	1472[32]	Mc
<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	10099-71-5	-	-

$n\text{-C}_6\text{H}_{13}$	16064-83-8	-	-
$n\text{-C}_7\text{H}_{15}$	31983-42-3	-	-
$n\text{-C}_8\text{H}_{17}$	2915-53-9	-	-

Индексы удерживания приводятся в таблицах 1.2 - 1.4 в виде в виде одного значения, если указан результат единичного измерения, если же для соединений указана информация из нескольких источников, то приводится интервал значений, где нижнее равно второму наименьшему значению, а верхнее – второму наибольшему. Такая выборка позволяет избежать влияния некорректных значений, т.е. выбросов.

Идентификация соединений, основанная только на масс-спектрометрической базе данных, представляется невозможной ввиду схожести спектров для большинства фталатов, причем это справедливо как для кислых эфиров, так и для диэфиров. Так, в статье [33] продемонстрирована некорректная идентификация соединения как диизононилфталат исключительно по полученному масс-спектру [34]. Помимо этого при анализе различных объектов, как правило, пищевых продуктов либо эфирных масел растений, зачастую идентифицируются фталаты, попавшие в пробу в результате пробоподготовки [35]. К примеру, авторы работы [36] говорят об определении дибутилфталата и диизобутилфталата в вересковом и гречишном меде.

Помимо этого известны примеры идентификации дизамещенных эфиров как кислые эфиры фталевой кислоты. Так, к примеру, в работе [37] в составе эфирного масла Сенны был обнаружен моно(2-этилгексил)фталат (индексы удерживания равны 2549 и 2553), такие значения параметра удерживания характерны для его структурного аналога – дизамещенного эфира. В соответствии с этим определение моно(2-этилгексил)фталата является ошибочным.

2. Экспериментальная часть

2.1. Синтез эфиров фталевой и малеиновой кислот

Синтез аналитов проводился в условиях кислотного катализа. Для получения моноалкилфталатов фталевый ангидрид (приблизительно 0.5 ммоль) смешивали с 50-кратным избытком соответствующего спирта (марка «Х.Ч.» или «Ч.Д.А.») с добавками каталитических количеств орто-фосфорной кислоты при нагревании в течение 20 минут до температуры кипения используемого спирта.

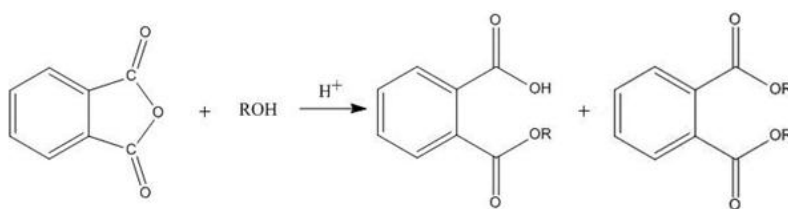


Рис. 2.1. Образование монофталатов при взаимодействии фталевого ангидрида со спиртами. Минорный продукт реакции - диэфиры фталевой кислоты.

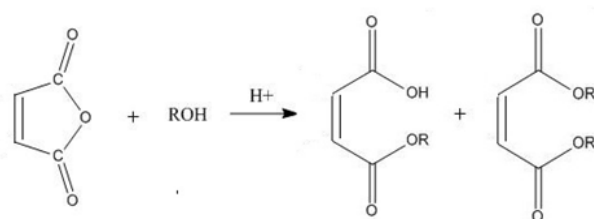


Рис. 2.2. Образование мономалеатов при взаимодействии малеинового ангидрида со спиртами. Минорный продукт реакции - диэфиры малеиновой кислоты.

Этиловые эфиры малеиновой кислоты и гептиловые эфиры фталевой и малеиновой кислот были синтезированы в одинаковых условиях при нагревании до определенной температуры. Реакцию проводили в запаянных стеклянных ампулах длиной 3-4 см с внутренним диаметром 6 мм при

нагревании в воздушном термостате до 80°C (для сравнения температура кипения этанола составляет 78°C) в течении 50 минут.

2.2. Хроматографический анализ

Высокоэффективная жидкостная хроматография в обращенно-фазовом режиме

Перед анализом полученная реакционная смесь была разбавлена в 50 раз ацетонитрилом. Для анализа использовали жидкостный хроматограф «СТАЙЕР» Аквилон со спектрофотометрическим детектором UVV 104M, длина волны детектирования 230 нм, колонка Luna 5 мкм C18(2), размер 250 × 4.6 мм, средний диаметр пор 100 Å. температура термостата 35 °С, объем дозирующей петли – 20 мкл.

Элюент:

ацетонитрил (Криохром, Санкт-Петербург, «ч.д.а») сорта 2 (Уф поглощение на 200 нм 0.012 а.е./см) и сорта 0 (Уф поглощение на 200 нм 0.008 а.е./см) дистиллированная вода, предварительно деионизованная с помощью деионизатора Д-301 марки Аквилон.

Режим градиентного элюирования от 40 до 90% ацетонитрила за 15 минут или от 40 до 90% ацетонитрила за 60 минут для соединений, индексы удерживания которых превышают значение в 1300 единиц.

Для монобутилового и дибутилового эфира фталевой кислоты также использовался изократический режим, состав подвижной фазы:

1. 45% ацетонитрила, 55% воды
2. 50% ацетонитрила, 50% воды
3. 55% ацетонитрила, 45% воды
4. 60% ацетонитрила, 40% воды

5. 65% ацетонитрила, 35% воды

6. 70% ацетонитрила, 30% воды

Скорость потока подвижной фазы 1мл/мин.

Хромато-масс-спектрометрический анализ

Перед проведением анализа избыток ортофосфорной кислоты в реакционной смеси был нейтрализован карбонатом натрия (СК ГРАНД, «х.ч»). В качестве растворителя был использован дихлорметан (J.T.Baker, «ч.д.а»). Анализ проводился с использованием хромато-масс-спектрометра GC-MS Shimadzu QP 2010 SE, электронная ионизация. Колонка RTX-5 MS, длина 30 м, внутренний диаметр 0.32 мм, толщина слоя неподвижной фазы 0,25 мкм. Температуры колонки:

1. для малеатов от 50 °С до 200 °С со скоростью 6 °С/мин

2. для фталатов от 70 °С до 200 °С со скоростью 5 °С/мин

Температура ионного источника 200°С, температура детектора 200°С, температура интерфейса 200°С. Газ-носитель гелий (марка «5.0», объемная доля гелия 99.999%), объемная скорость потока по колонке 1.83 мл/мин, деление потока при дозировании проб 11.7 : 1. Объем проб 0.5 мкл.

Реперные соединения

В качестве реперных компонентов для определения индексов удерживания в жидкостной хроматографии использовали ацетофенон, пропиофенон и бутирофенон, марка «ЧДА».

В качестве реперных компонентов для определения индексов удерживания в газовой хроматографии использовали *n*-алканы C₈ –C₂₀ с четным числом атомов углерода в молекуле.

Смесь реперных компонентов, взятых в равных пропорциях (по объему), добавляли к раствору, содержащему анализируемые компоненты (1:100).

Благодарность

Данная работа была выполнена на базе ресурсного образовательного центра по направлению «Химия» при Институте химии Санкт-Петербургского государственного университета. Авторы выражают благодарность сотрудникам центра за содействие.

2.3. Математическая обработка

Линейно-логарифмические индексы удерживания (2.1. – 2.3.) (ГХМС и режим градиентного элюирования в ВЭЖХ) и логарифмические индексы удерживания (2.4.) (в изократическом режиме ВЭЖХ) вычисляли с использованием программы QBasic.

$$RI_x = RI_k + (RI_{k+m} - RI_k) \left(\frac{f(t'_{R,x}) - f(t'_{R,k})}{f(t'_{R,k+m}) - f(t'_{R,k})} \right) \quad (2.1.)$$

$$\text{где } f(t'_R) = t_R + q \log t'_R \quad (2.2.)$$

$$q = \frac{2t_{R,k} - t_{R,k-1} - t_{R,k+1}}{\log t'_{R,k-1} + \log t'_{R,k+1} - 2 \log t'_{R,k}} \quad (2.3.)$$

$$RI_x = RI_k + 100 \times \left[\frac{\lg(t_{R(x)} - t_0) - \lg(t_{R(k)} - t_0)}{\lg(t_{R(k+1)} - t_0) - \lg(t_{R(k)} - t_0)} \right] \quad (2.4.)$$

Обозначения, используемые в 2.1. – 2.4:

RI_x – индекс удерживания аналита, RI_k – индекс удерживания реперного компонента, содержащего k атомов углерода, t_R – время удерживания компонента, t_0 – мертвое время, t'_R – исправленное время удерживания.

Для соединений, индексы удерживания которых меньше 800, был применен алгоритм, охарактеризованный в работе [38]:

$$C_R(t_R \leq t_1) = C_1 \quad (2.5.)$$

$$RI = RI_n + (RI_{n+1} - RI_n) \times (C_{R,x} - C_{R,1}) / (C_{R,2} - C_{R,1}) \quad (2.6.)$$

где t_1 – время удерживания реперного соединения – ацетофенона, t_2 – время удерживания пропиофенона, t_R – время удерживания аналита, $C_{R,x}$ – объемное содержание ацетонитрила в элюенте в момент времени t_x , $C_{R,1}$ – объемное содержание ацетонитрила в элюенте в момент времени t_1 , $C_{R,2}$ – объемное содержание ацетонитрила в элюенте в момент времени t_2 .

3. Обсуждение результатов

3.1. Высокоэффективная жидкостная хроматография в обращенно-фазовом режиме

Поскольку фталаты содержат хромофор, и в УФ-области на длинах волн 220-270 нм наблюдается активное поглощение, возможен их анализ с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии в обращенно-фазовом режиме со спектрофотометрическим детектированием. В соответствии с этим связи с этим представляется целесообразным дополнить характеристику моноэфиров фталевой кислоты их индексами удерживания в условия обращенно-фазовой ВЭЖХ. Определение индексов удерживания $RI(ВЭЖХ)$ веществ какой-либо группы эквивалентно установлению применимости этого метода для анализа соединений данной группы. В соответствии с этой концепцией были определены индексы удерживания 14 монозамещенных фталатов $C_1 - C_8$ (табл. 3.1.), попадающие в диапазон 640 – 1180 ед. инд. Таким образом, среднее значение инкремента ΔRI в расчете на гомологическую разность CH_2 составляет ~ 80 ед. индекса, что меньше теоретического значения 100. Это может быть связано с экранированием полярной карбоксильной группы в молекулах монозамещенных эфиров алкильными фрагментами. С этим же эффектом связана аномально малая разность RI моноэтил- и метилфталатов, составляющая всего 27 ед. инд. Для сравнения индекс удерживания фталевого ангидрида равен 604, а у фталевой кислоты закономерно меньше 600.

Табл. 3.1. Индексы удерживания моноалкилфталатов $o-C_6H_4(CO_2R)CO_2H$ в обращенно-фазовой ВЭЖХ (единичные измерения приведены без стандартных отклонений)

R	RI
CH_3	640

C_2H_5	667±2
$n-C_3H_7$	752±5
$n-C_4H_9$	831±2
<i>втор</i> - C_4H_9	817
<i>изо</i> - C_4H_9	829±10
$n-C_5H_{11}$	915
<i>изо</i> - C_5H_{11}	867
$n-C_6H_{13}$	1010±4
$n-C_7H_{15}$	1082
$CH(CH_3)C_5H_{11}$	1056±2
$n-C_8H_{17}$	1176
$CH(CH_3)C_6H_{13}$	1187±15

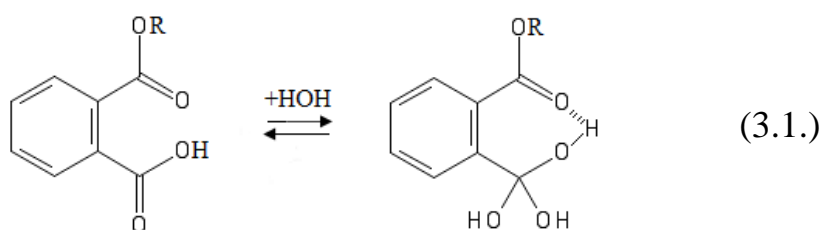
Мертвое время было определено с использованием бромида калия (марка «х.ч»). Среднее значение времени удерживания по 4 параллельным измерениям равно 2.29 мин (табл. 3.2.).

Табл. 3.2. Значения времен удерживания бромида калия. Среднее значение времени удерживания приведено со стандартным отклонением

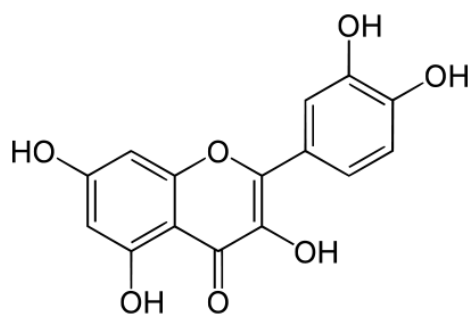
№ п/п	t_0 , мин	Среднее значение, мин
1	2.300	
2	2.264	
3	2.296	
4	2.307	
		2.29±0.03

Монобутиловый (МВР) и дибутиловый (ДВР) эфиры фталевой кислоты были также проанализированы в изократических режимах с различным содержанием ацетонитрила (C , от 45 до 70%) в элюенте. Индексы удерживания приведены в табл. 3.3. Графики зависимости $RI = a \times C + b$ приведены на рис 3.1. (а) для монобутилфталата и 3.1. (б) дибутилфталата.

Параметры соответствующих линейных уравнений, коэффициент корреляции r и генеральная дисперсия S_0 указаны в табл. 3.4. Значения коэффициента ' a ' для монобутилфталата и дибутилфталата отрицательны (-2.40 и -5.99, соответственно), то есть при увеличении объемной доли ацетонитрила в элюенте индексы удерживания уменьшаются. Такой эффект может быть объяснен гидратацией анализируемых соединений. При увеличении содержания воды в элюенте равновесие между гидратированной и негидратированной формами в процессе (3.1.) сдвигается вправо и, соответственно, увеличивается доля гидратированного эфира.



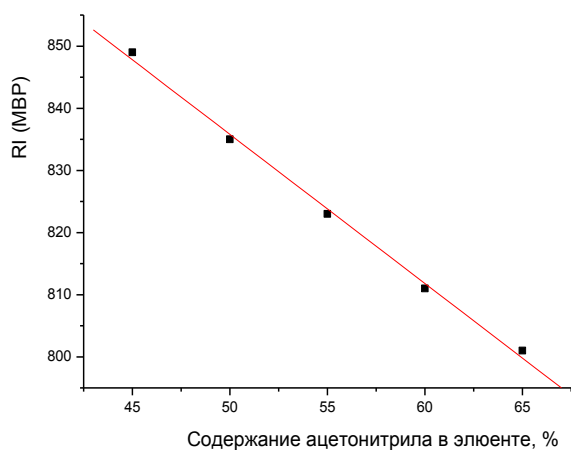
Это обуславливает увеличение RI , поскольку индексы удерживания гидратированных форм больше. Гидратация дибутилфталата протекает аналогично, причем абсолютное значение коэффициента ' a ' этой зависимости значительно больше (табл. 3.4.). Такая особенность обычно ухудшает воспроизводимость результатов анализа методом ВЭЖХ (например, в нашей работе разброс значений $RI(ВЭЖХ)$ некоторых соединений связан с различным содержанием ацетонитрила в различных режимах), однако ее можно использовать для групповой идентификации склонных к гидратации соединений по аномальным значениям производных $\partial RI / \partial C$. До настоящей работы подобная гидратация в условия ВЭЖХ была выявлена для флавоноидов, содержащих активные атомы водорода. Для кверцетина (3.2.), как типичного представителя подобных соединений, значение производной $\partial RI / \partial C$ равно -9 [39]



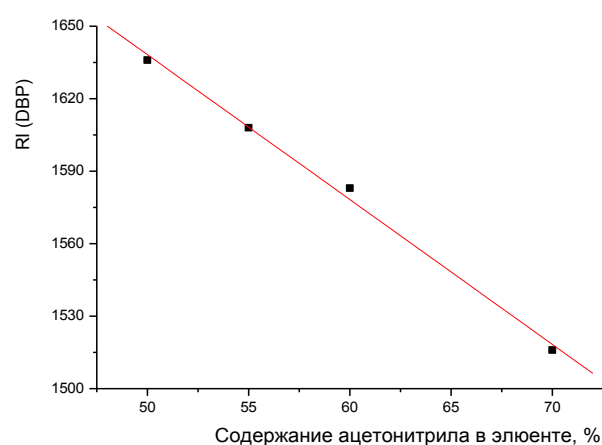
(3.2.)

Табл. 3.3. Значения индексов удерживания МВР (монобутилфталата) и DBP (дибутилфталата) в зависимости от объёмной доли ацетонитрила в составе подвижной фазы.

C, %	RI (MBP)	RI (DBP)
45	849 ± 3	
50	835 ± 2	1636 ± 36
55	823 ± 1	1608 ± 19
60	811 ± 3	1583 ± 15
65	801 ± 1	
70		1516 ± 10



а



б

Рис. 3.1. Графики зависимости индексов удерживания монобутилфталата (а) и дибутилфталата (б) от состава подвижной фазы.

Табл. 3.4. Параметры уравнений $RI = aC + b$ (C – объемное содержание ацетонитрила в элюенте) для моно- и дибутилфталатов

	MBP	DBP
$a \pm s_a$	$-2.40 \pm 0,08$	$-5.99 \pm 0,27$
$b \pm s_b$	956 ± 4	1937 ± 16
R	-0.998	-0.998
S_0	1.2	4.0

3.2. Хромато-масс-спектрометрия

Было проанализировано 18 моноэфиров фталевой кислоты и 14 моноэфиров малеиновой кислоты с различными заместителями, для каждого из них получены масс-спектры и определены индексы удерживания на стандартных неполярных фазах RTX-5 (табл. 3.5. и 3.6. соответственно).

Табл. 3.5. Индексы удерживания и масс-спектры соединений *o*-C₆H₄(CO₂R)CO₂H

R	RI	Масс-спектр: $m/z \geq 38$ ($I_{\text{отн}} \geq 2\%$)
CH ₃	xxxx ± x	180(2) M , 163(2), 150(9), 149(100), 148(10), 137(4), 136(31), 135(18), 122(5), 121(20), 118(2), 106(5), 105(52), 104(65), 94(2), 93(29), 92(34), 91(16), 78(4), 77(33), 76(76), 75(14), 74(21), 73(5), 71(3), 66(5), 65(37), 64(5), 63(5), 59(3), 58(2), 57(2), 53(3), 52(6), 51(16), 50(46), 49(4), 44(3), 43(3), 41(2), 39(24), 38(17)
C ₂ H ₅	xxxx	194(1) M , 176(10), 151(3), 150(24), 149(100), 148(8), 135(3), 132(3), 123(2), 122(24), 121(13), 115(2), 106(9), 105(61), 104(41), 94(2), 93(18), 92(2), 91(5), 77(19), 76(48), 75(7), 74(10), 66(3), 65(31), 64(2), 63(3), 62(2), 53(3), 52(5), 51(10), 50(21), 49(2), 46(2), 45(10), 44(6), 43(4), 42(2), 39(18), 38(5)
<i>n</i> -C ₃ H ₇	xxxx ± x	209(0.1)[M+1], 208(0.1) M , 167(9), 150(10), 149(100), 148(5), 135(2), 123(5), 122(13), 121(8), 106(3), 105(25), 104(35), 93(12), 77(11), 76(36), 75(7), 74(9), 73(2), 66(2), 65(22), 63(2), 60(2), 59(5), 51(7), 50(23), 49(2), 44(3), 43(4), 42(6), 41(9), 39(14), 38(5)
CH(CH ₃) ₂	xxxx ± x	209(0.05)[M+1], 208(0.02) M , 167(10), 151(2), 150(26), 149(100), 123(3), 122(16), 121(7), 106(2), 105(22), 104(6), 93(8), 77(4), 76(7), 75(2), 65(13), 59(7), 51(3), 50(4), 45(3), 44(2), 43(13), 42(3), 41(8), 39(9)
CH ₂ –CH=CH ₂	xxxx ± x	206(2) M , 188(3), 151(2), 150(19), 149(100), 148(4), 132(8), 122(13), 121(9), 105(15), 104(21),

		93(10), 77(4), 76(13), 75(2), 74(3), 65(14), 58(3), 57(3), 51(3), 50(7), 41(10), 39(15), 38(3)
<i>H</i> -C ₄ H ₉ ,	xxxx ± x	222(0.2) M , 167(9), 150(9), 149(100), 123(2), 167(9), 150(9), 149(100), 123(2), 122(5), 121(6), 105(8), 104(4), 93(7), 77(2), 76(5), 65(10), 56(6), 51(2), 49(2), 41(7), 39(5)
CH(CH ₃)–CH ₂ –CH ₃	xxxx ± x	222(0.01) M , 167(10), 150(13), 149(100), 148(2), 123(4), 122(8), 121(6), 106(2), 105(18), 104(13), 93(8), 77(6), 76(14), 75(3), 74(3), 73(4), 65(15), 59(2), 57(4), 56(9), 55(2), 51(4), 45(10), 44(4), 43(4), 41(15), 39(10), 38(2)
CH ₂ –CH(CH ₃) ₂	xxxx ± 2	223(0.02)[M+1], 167(10), 150(9), 149(100), 123(2), 122(4), 121(6), 105(7), 104(6), 93(7), 77(3), 76(7), 74(2), 65(10), 57(2), 56(9), 51(2), 50(4), 43(5), 42(3), 41(9), 39(7)
C(CH ₃) ₃	xxxx ± x	222(1) M , 221(1), 167(57), 150(10), 149(100), 124(2), 123(17), 122(14), 121(3), 118(2), 105(8), 93(5), 77(3), 76(3), 75(4), 74(4), 65(7), 59(9), 58(4), 57(97), 56(30), 55(4), 43(3), 42(2), 41(45), 39(20), 38(9)
<i>H</i> -C ₅ H ₁₁	xxxx ± x	236(0.1) M , 167(11), 150(11), 149(100), 148(3), 123(6), 122(7), 121(6), 105(15), 104(18), 93(8), 77(6), 76(18), 75(3), 74(4), 70(10), 69(3), 65(14), 57(2), 56(2), 55(13), 51(3), 50(9), 44(3), 43(8), 42(19), 41(16), 39(10), 38(3)
CH ₂ –CH ₂ – CH(CH ₃) ₂	xxxx ± x	223(4)[M+1], 209(2), 207(2), 206(2), 205(2), 151(2), 150(9), 149(100), 122(2), 121(3), 105(3), 104(5), 93(2), 78(3), 77(2), 76(3), 66(2), 65(3), 50(2), 47(2), 40(4)
CH(CH ₃)CH–CH ₂ – CH ₃	xxxx ± x	236(0.1) M , 167(10), 150(12), 149(100), 123(4), 122(6), 121(5), 105(13), 104(5), 93(6), 77(5), 76(6), 70(6), 65(9), 59(6), 55(5), 51(3), 50(3), 45(2), 44(2), 43(7), 42(4), 41(5), 39(6)
<i>H</i> -C ₆ H ₁₃	xxxx ± x	250(0.05) M , 150(10), 149(100), 123(3), 122(6), 121(7), 105(8), 104(4), 93(3), 84(3), 77(3), 76(5), 69(6), 65(16), 57(2), 56(16), 55(11), 51(2), 50(3), 43(13), 42(7), 41(13)
<i>H</i> -C ₇ H ₁₅	xxxx ± x	264(0.2) M , 262(2), 167(12), 151(2), 150(12), 149(100), 148(15), 123(3), 122(6), 121(6), 116(3),

		115(16), 114(3), 105(7), 104(4), 98(13), 93(12), 83(4), 77(3), 76(6), 73(5), 70(11), 69(6), 68(3), 67(4), 65(15), 57(7), 56(16), 55(22), 54(3), 53(2), 50(3), 43(10), 42(8), 41(2)
CH(CH ₃)CH ₂ –CH ₂ –CH ₂ –CH ₂ –CH ₃	xxxx ± x	264(0.2) M , 168(2), 167(16), 150(13), 149(100), 123(2), 122(7), 121(6), 105(9), 104(5), 98(8), 93(7), 83(2), 77(3), 76(6), 70(8), 65(11), 57(8), 56(13), 55(8), 51(2), 50(3), 45(8), 44(2), 43(10), 42(4), 41(15), 39(6)
<i>n</i> -C ₈ H ₁₇	xxxx ± x	278(0.2) M , 167(14), 150(10), 149(100), 148(3), 123(4), 122(5), 121(4), 105(7), 104(13), 93(5), 84(6), 83(6), 82(2), 77(3), 76(10), 74(3), 73(2), 72(2), 70(11), 69(11), 68(3), 67(2), 65(8), 67(2), 65(8), 57(6), 56(13), 55(12), 51(2), 50(5), 44(3), 43(14), 42(9), 41(18), 39(6)
CH(CH ₃)CH ₂ –CH ₂ –CH ₂ –CH ₂ –CH ₂ –CH ₃	xxxx ± x	287(1) [M+1], 167(18), 150(13), 149(100), 122(6), 121(4), 112(5), 105(7), 104(3), 93(5), 84(4), 83(6), 77(2), 76(3), 71(3), 70(9), 69(5), 65(7), 57(4), 56(5), 55(6), 45(4), 43(9), 42(6), 41(10), 39(3)
CH ₂ – C ₆ H ₅	xxxx ± x	256(6) M , 255(2), 239(3), 195(2), 181(8), 172(3), 151(6), 150(100), 149(67), 135(2), 134(2), 139(9), 122(3), 120(3), 119(9), 115(2), 108(3), 105(2), 92(8), 91(100), 90(3), 89(4), 85(2), 79(2), 75(2), 73(2), 65(6), 55(2), 52(2), 51(3), 43(6), 41(2)

Табл. 3.6. Индексы удерживания и масс-спектры соединений *o*-C₂H₂(CO₂R)CO₂H

R	RI	Масс-спектр: $m/z \geq 25$ ($I_{\text{отн}} \geq 2\%$)
CH ₃	xxxx	130 (0.2) M , 113(2), 100(12), 99(100), 86(14), 85(15), 82(3), 81(2), 72(3), 71(4), 68(4), 59(7), 56(3), 55(16), 54(12), 53(9), 45(38), 44(6), 43(6), 42(14), 41(5), 31(5), 29(7), 28(5), 27(21), 26(17), 25(3)
C ₂ H ₅	xxxx	145(0.1) [M+1], 126(8), 117(3), 101(2), 100(20), 99(100), 98(4), 82(13), 81(2), 73(2), 72(9), 71(11), 56(5), 55(20), 54(13), 53(5), 46(3), 45(39), 42(2), 41(2), 31(5), 29(22), 28(8), 27(42), 26(14)
<i>n</i> -C ₃ H ₇	xxxx ± x	159(0.05) [M+1], 117(6), 100(9), 99(100), 82(2), 73(7), 72(5), 71(6), 59(4), 55(7), 54(6), 53(3),

		45(11), 44(4), 43(14), 42(13), 41(15), 39(5), 31(6), 29(5), 28(3), 27(15), 26(4)
<i>u30</i> -C ₃ H ₇	xxxx ± x	159(0.1) [M+1], 117(9), 100(19), 99(100), 82(4), 73(3), 72(20), 71(7), 69(2), 59(4), 56(2), 55(10), 54(6), 53(2), 45(41), 44(8), 43(46), 42(11), 41(26), 40(2), 39(8), 29(3), 28(4), 27(16), 26(6)
CH ₂ –CH=CH ₂	xxxx ± x	157(0.1) [M+1], 156(0.03) M , 101(5), 100(100), 99(75), 98(3), 97(5), 82(8), 81(2), 72(21), 71(3), 69(2), 67(3), 57(6), 55(6), 54(7), 45(3), 43(3), 42(6), 41(100), 40(2), 39(19), 29(3), 28(3), 27(5), 26(4)
<i>h</i> -C ₄ H ₉	xxxx ± x	171(0.1) [M+1], 117(8), 116(0.03), 100(13), 99(100), 82(3), 73(8), 72(7), 71(6), 68(2), 57(6), 56(30), 55(14), 54(7), 53(3), 45(11), 44(6), 43(8), 42(4), 41(31), <u>40(2)</u> , 39(6), 31(3), 29(13), 28(6), 27(15), 26(7)
<i>u30</i> -C ₄ H ₉	xxxx ± x	173(0.02) [M+1], 117(11), 101(2), 100(27), 99(100), 82(3), 73(5), 72(11), 71(6), 59(3), 57(11), 56(37), 55(12), 54(6), 53(3), 45(11), 44(4), 43(13), 42(5), 41(32), 40(2), 39(9), 31(2), 29(12), 28(4), 27(14), 26(15)
CH(CH ₃)C ₂ H ₅	xxxx ± x	173(0.03) [M+1], 117(11), 101(2), 100(26), 99(100), 82(3), 73(6), 72(11), 71(7), 59(2), 57(12), 56(38), 55(14), 54(7), 53(3), 45(11), 44(5), 43(17), 42(7), 41(35), 40(2), 39(10), 33(3), 29(12), 28(4), 27(15), 26(7)
<i>h</i> -C ₅ H ₁₁	xxxx	186(0.2) M , 117(16), 101(2), 100(17), 99(100), 98(2), 87(2), 82(4), 81(2), 73(9), 72(6), 70(34), 69(7), 55(40), 54(16), 53(5), 45(13), 44(15), 42(56), 41(27), 40(2), 39(10), 31(8), 29(15), 28(6), 27(18), 26(16)
CH(C ₂ H ₅) ₂	xxxx ± x	187(0.1) [M+1], 157(2), 117(12), 113(2), 100(13), 99(94), 87(10), 83(2), 82(5), 73(2), 72(18), 71(16), 70(21), 69(3), 60(3), 59(100), 58(2), 57(4), 56(2), 55(22), 54(7), 53(4), 45(19), 44(7), 43(46), 42(11), 41(21), 39(8), 29(14), 28(4), 27(19), 26(6)
<i>h</i> -C ₆ H ₁₃	xxxx ± x	201(0.1) [M+1], 118(2), 117(24), 101(3), 100(20), 99(100), 98(2), 85(2), 84(13), 83(10), 82(4), 81(2), 73(9), 72(6), 71(6), 70(2), 67(2), 57(5), 56(48), 55(37), 54(11), 53(4), 45(10), 44(7), 43(53), 42(27),

		41(38), 40(2), 39(8), 31(3), 29(12), 28(5), 27(17), 26(8)
$H-C_7H_{15}$	$xxxx \pm x$	215(0.1) [M+1], 214(0.02) M , 139(2), 118(4), 117(43), 101(2), 100(26), 99(100), 97(6), 81(2), 73(7), 70(21), 69(11), 68(4), 56(21), 55(19), 54(9), 53(3), 54(12), 42(9), 39(4), 31(2), 28(4), 27(13), 26(6)
$H-C_8H_{17}$	$xxxx \pm x$	229(0.2) [M+1], 228(0.1) M , 153(2), 139(2), 129(3), 118(4), 117(50), 111(6), 101(2), 100(27), 99(100), 84(9), 83(14), 82(7), 81(2), 73(7), 72(2), 70(22), 69(43), 68(5), 67(3), 56(9), 55(27), 54(6), 53(3), 45(8), 44(2), 42(16), 41(19), 39(5), 29(6), 28(4), 27(13), 26(4)
$CH(CH_3)C_6H_{13}$	$xxxx \pm x$	228(-) M , 143(2), 129(4), 117(16), 114(2), 113(2), 112(9), 111(2), 101(2), 100(14), 99(100), 98(2), 97(10), 85(2), 84(12), 83(19), 82(8), 81(2), 73(2), 72(8), 71(21), 70(29), 69(23), 68(3), 58(2), 57(27), 56(21), 55(41), 54(6), 53(3), 46(2), 45(62), 44(5), 43(36), 42(13), 41(31), 39(5), 29(11), 28(3), 27(12), 26(3)

3.2.1. Параметры удерживания

Полученные значения индексов удерживания в целом хорошо согласуются со значениями, приведенными в базе данных [30] для тех соединений, значения RI для которых известны. Также для проверки полученных результатов можно использовать аддитивные схемы, например, зависимость индексов удерживания *n*-алкиловых эфиров от числа атомов углерода в спиртовом остатке. Вид функции $RI = f(n(C))$

$$\lg(RI) = a \times \lg(n(C)) + b \times n(C) + c \quad (3.3.)$$

наиболее точно описывает зависимость индексов удерживания от количества атомов углерода в радикале, так как учитывает аномальное значение индекса удерживания первого гомолога ряда – метилового эфира, не укладывающегося в линейную зависимость.

Однако для упрощения, поскольку нас интересует возможность экстраполяции зависимости на эфиры высших спиртов, вместо логарифмической целесообразно использовать линейную зависимость вида:

$$RI = a \times n(C) + b \quad (3.4.)$$

Графики данных зависимостей для *n*-алкиловых эфиров фталевой и малеиновой кислот приведены на рис. 3.2. и 3.3. соответственно. Параметры соответствующих линейных уравнений для моно- и дизамещенных эфиров фталевой и малеиновой кислот, коэффициент корреляции *r* и генеральная дисперсия *S*₀ указаны в табл. 3.7.

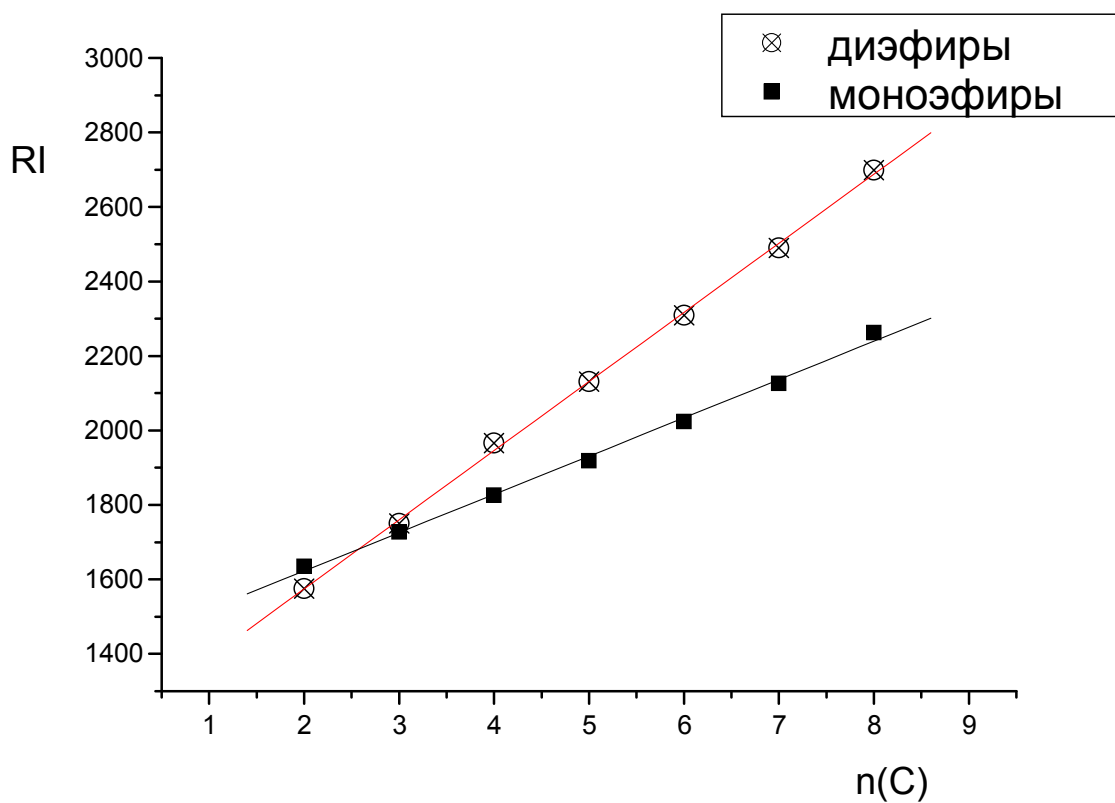


Рис. 3.2. Зависимость индексов удерживания моно-*n*-алкилфталатов и дизамещенных *n*-алкилфталатов от числа атомов углерода в спиртовом остатке.

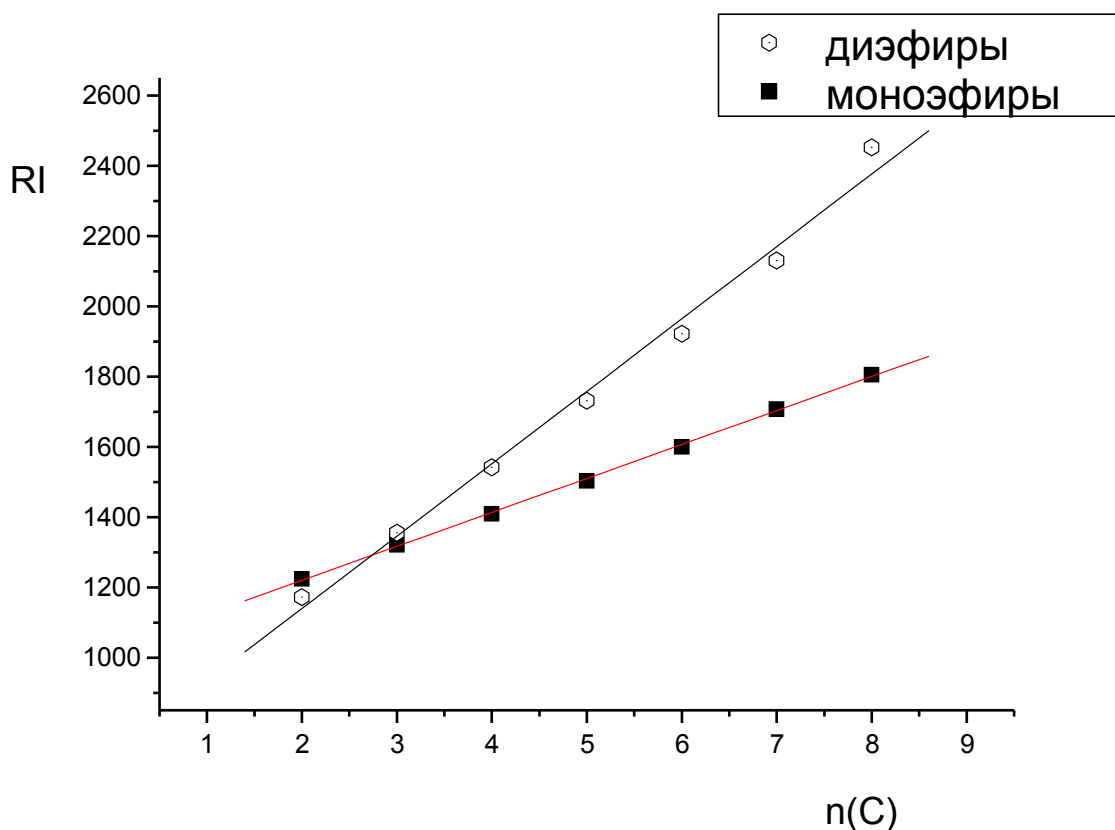


Рис. 3.3. Зависимость индексов удерживания моно-*n*-алкилмалеатов и дизамещенных *n*-алкилфталатов от числа атомов углерода в спиртовом остатке

Табл. 3.7. Параметры уравнений линейного регрессии для моно- и диэфиров фталевой и малеиновой кислот, коэффициент корреляции r и генеральная дисперсия S_0

	Моноэфиры фталевой кислоты	Диэфиры фталевой кислоты	Моноэфиры малеиновой кислоты	Диэфиры малеиновой кислоты
$a \pm s_a$	xxx.x \pm x.x	xxx.x \pm x.x	xx.x \pm x.x	xxx.x \pm x.x
$b \pm s_b$	xxxx \pm xx	xxxx \pm xx	xxxx \pm x	xxxx \pm xx
R	x.xxx	x.xxx	x.xxx	x.xxx
S_0	xx.x	xx.x	x.x	xx.x

С помощью данных зависимостей можно производить оценку индексов удерживания соединений гомологического ряда моно-*n*-алкиловых эфиров и

ди-*n*-алкиловых эфиров малеиновой и фталевой кислот, основываясь на количестве атомов углерода в спиртовом остатке. Это позволяет не только проверять правильность полученных значений, но и предсказывать индексы удерживания пока еще неохарактеризованных соединений ряда. Более того, можно использовать зависимости $RI(n(C))$ для предсказания индексов смешанных эфиров (содержащих разные спиртовые остатки). В данной работе индексы удерживания дизамещенных эфиров также будут использоваться для нахождения корреляции между параметрами удерживания для моноэфиров и диэфиров, поскольку в справочной литературе диэфиры фталевой и малеиновой кислот охарактеризованы лучше, чем кислые эфиры. На рис. 3.4. приведен график данной зависимости для 12 пар соединений (алкиловые и аллиловые эфиры фталевой кислоты), на рис. 3.5. – аналогичная зависимость для эфиров малеиновой кислоты. Параметры линейной регрессии для уравнения

$$RI(\text{моноэфир}) = a \times RI(\text{диэфир}) + b \quad (3.5.)$$

где $RI(\text{моноэфир})$ – индекс удерживания моноэфира фталевой кислоты, $RI(\text{диэфир})$ – индекс удерживания соответствующего диэфира фталевой кислоты,

а также коэффициент корреляции r и генеральная дисперсия S_0 приведены в таблице 3.8.

Данные зависимости могут применяться для теоретической оценки значения индекса удерживания моноэфира на основе индекса удерживания соответствующего диэфира, а также использоваться для контроля правильности индексов удерживания для каждой из этих групп.

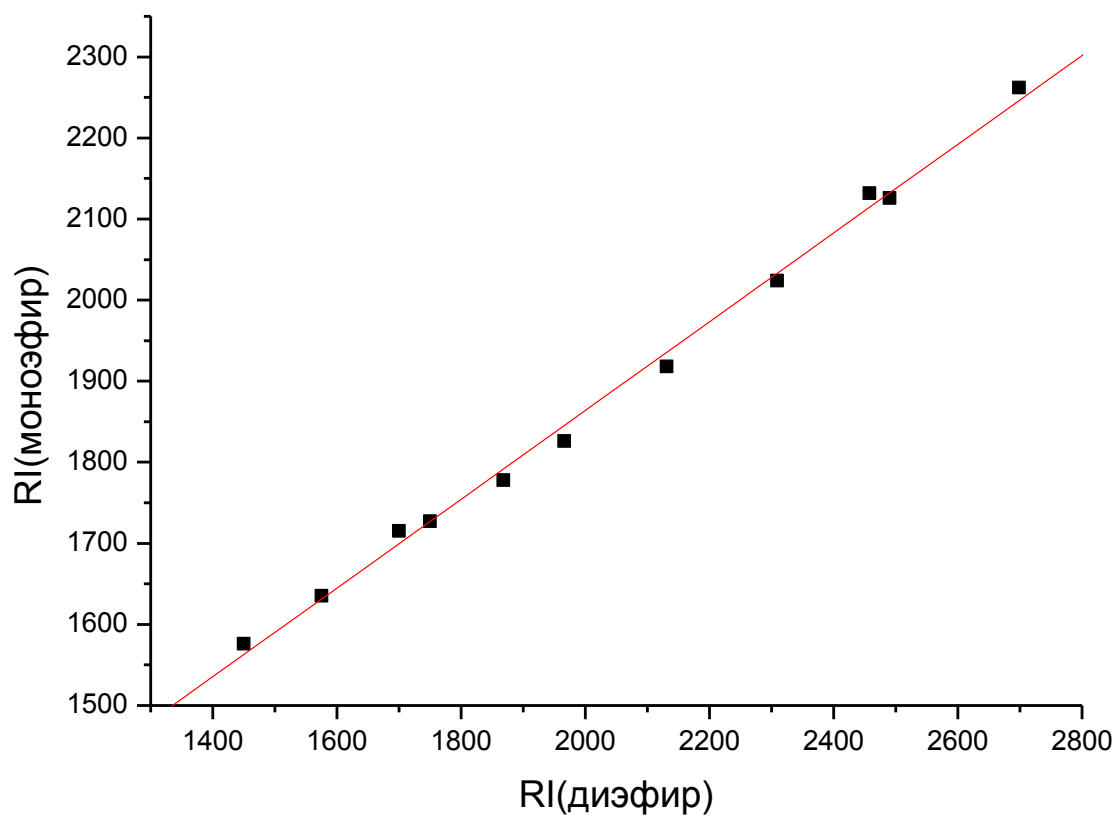


Рис. 3.4. Зависимость индексов удерживания моноэфиров от индексов удерживания диэфиров фталевой кислоты.

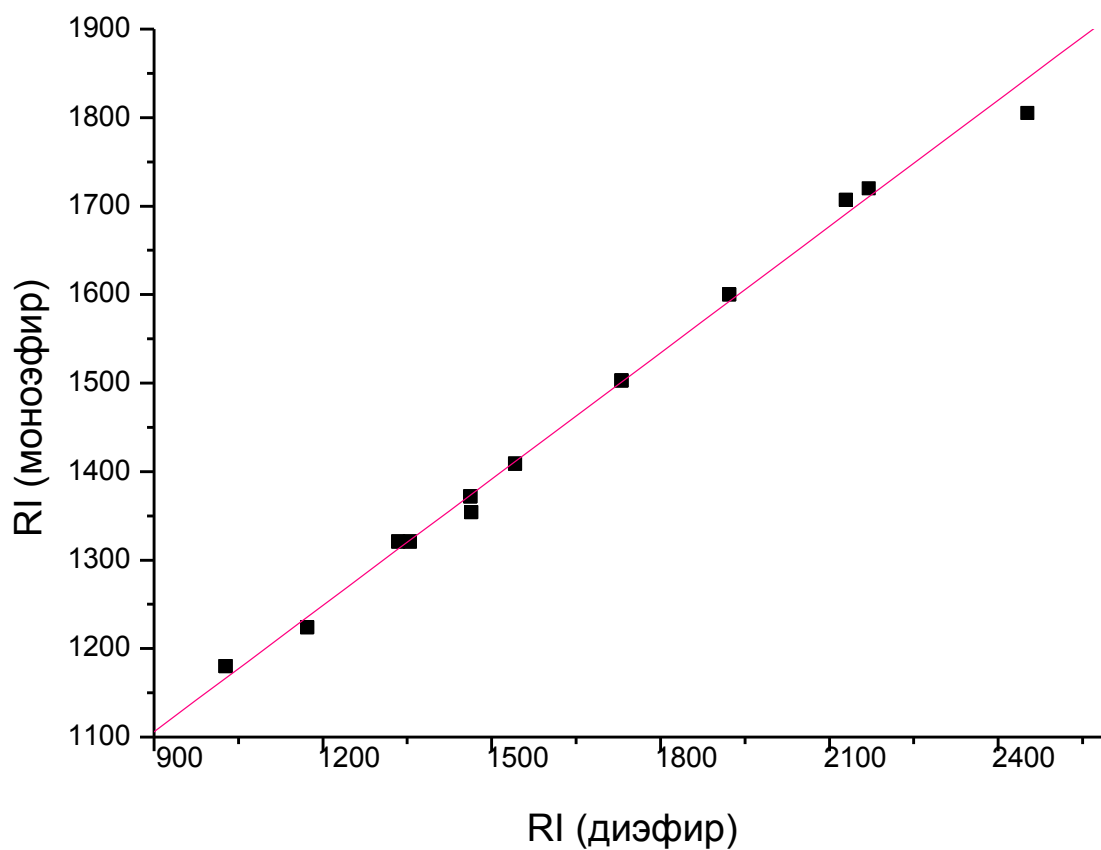


Рис. 3.5. Зависимость индексов удерживания моноэфиров от индексов удерживания диэфиров малеиновой кислоты.

Табл. 3.8. Параметры линейной регрессии уравнения 3.5. для эфиров фталевой и малеиновой кислот

	Эфиры фталевой кислоты	Эфиры малеиновой кислоты
$a \pm s_a$	$x.xx \pm x.xx$	$x.xx \pm x.xx$
$b \pm s_b$	$xxx \pm xx$	$xxx \pm xx$
R	$x.xxx$	$x.xxx$
S_0	$xx.x$	$xx.x$

Для проверки полученных уравнений можно сравнить экспериментальные индексы удерживания моноэфиров и расчетные значения. Были выбраны монодециловый эфир (3.6), не содержащие разветвлений, моно-2-этилгексиловый эфир (3.7.) и

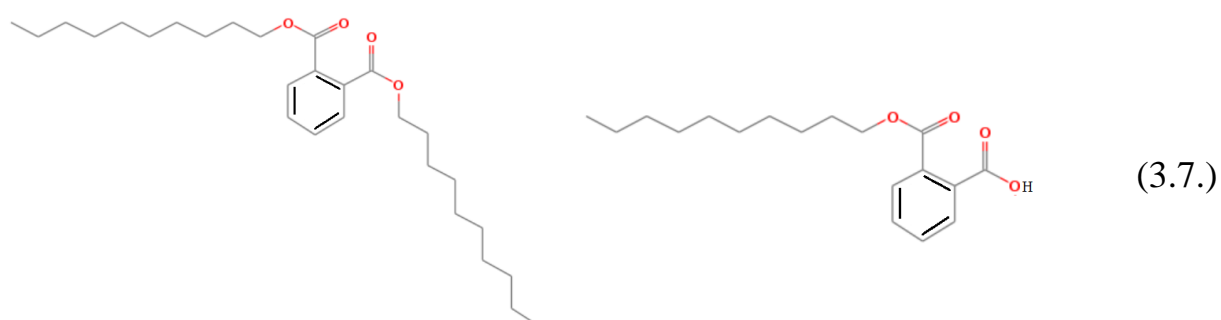
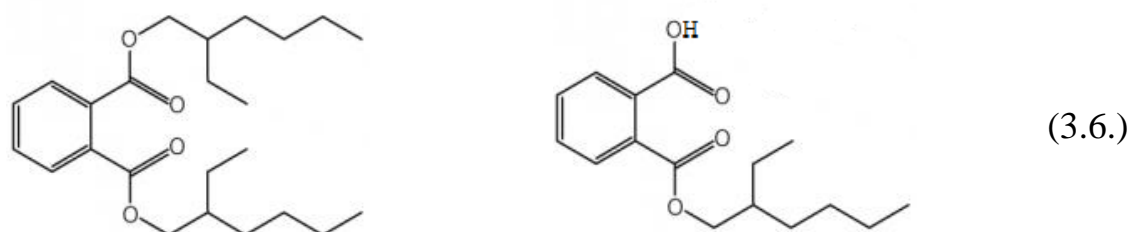


Табл. 3.9. Сравнение значения индексов удерживания мономонодецилового и моно-2-этилгексилового эфира, полученных экспериментально и рассчитанных на основе полученного уравнения.

Эфиры	RI(диэфир)	RI(моноэфир) расчет	RI(моноэфир) exper
(3.6.)	2503	2146	2152
(3.7.)	3067	2456	2431

Наблюдается хорошее соответствие экспериментальных значений и значений, полученных с помощью предложенного уравнения. Оно применимо для эфиров как нормальных спиртов, так и содержащих разветвления. Однако это уравнение не выполняется для эфиров, содержащих арильные заместители (то же верно для уравнения, полученного для эфиров малеиновой кислоты).

Также для сравнения степени конверсии эфиры фталевой и малеиновой кислоты были синтезированы в одинаковых условиях при нагреве до 80°C.

Малеиновый ангидрид более реакционноспособен, чем фталевый ангидрид, что видно по соотношению площадей (Табл. 3.10.) пиков эфиров и исходных реагентов. Показано, что практический весь малеиновый ангидрид превращается в эфиры, то есть конверсия составляет приблизительно 100%. При этом при анализе гептиловых эфиров малеиновой кислоты пик исходного реагента на хроматограммах не обнаружен, однако в случае фталатов количество фталевого ангидрида довольно велико. Если сравнивать количества эфиров и исходного ангидрида для фталатов, то можно заметить, что в случае высших спиртов конверсия значительно больше, так, на рис. 3.6. приведен фрагмент хроматограммы моноэтилфталата. Интенсивность сигнала исходного фталевого ангидрида значительно выше, чем образовавшегося моноэтилфталата.

Табл. 3.10. Площади пиков моноэфира, диэфира и исходного ангидрида на хроматограммах этилмалеатов, гептилмалеатов и гептилфталатов (площади пиков по двум параллельным анализам)

	Этилмалеаты		Гептилмалеаты		Гептилфталаты	
Моноэфир	2465064	3119878	2089475	2762135	203539	265148
Диэфир	1415665	17002253	10576576	12648658	15574	21531
Исходный ангидрид	44529	47898	-	-	200087	141728

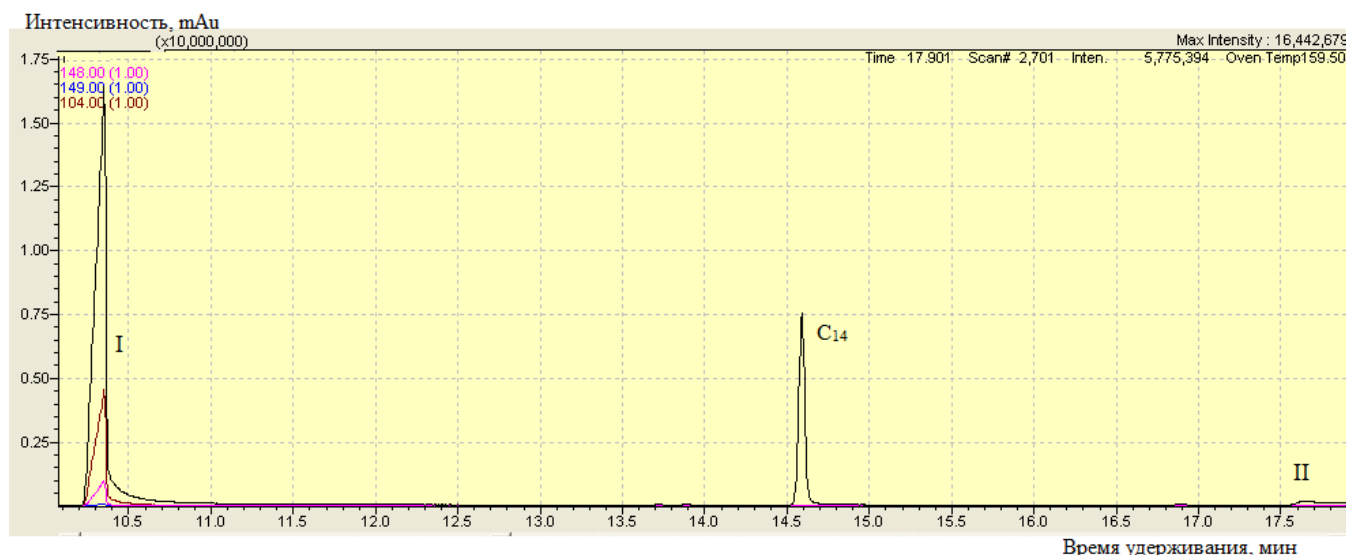


Рис. 3.6. Фрагмент хроматограммы моноэтилфталата. Показано соотношение интенсивностей сигналов фталевого ангидрида (I) и моноэтилфталата(II), C₁₄ - реперный алкан.

Известно, что малеиновая (цис-бутендиовая) кислота может изомеризоваться с образованием фумаровой (транс-бутендиовой) кислоты. Данная реакция катализируется небольшим количеством Br₂ Cl₂ [40]. Однако на хроматограммах не было обнаружено дополнительных пиков, принадлежащих эфирам фумаровой кислоты, а сравнение индексов удерживания полученных эфиров и соответствующих малеатов подтверждает образование эфиров исключительно малеиновой кислоты.

3.2.2 Масс-спектрометрическая характеристика

Для монофталатов самый интенсивный сигнал (m/z 149) в масс-спектре принадлежит ионам $[\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_3]^+$. Дальнейший распад этих ионов с элиминированием молекулы CO_2 обуславливает появление сигнала с m/z 105, а при последующем отщеплении молекулы CO и атом водорода образуются ионы $[\text{C}_6\text{H}_4]^+$, которым принадлежит сигнал с m/z 76. Такую серию сигналов можно обнаружить для всех проанализированных соединений (табл. 3.5.).

Для мономалеатов распад молекулярного ион-радикала аналогичен. Самый интенсивный сигнал (m/z 99) в масс-спектре принадлежит иону $[\text{C}_4\text{H}_3\text{O}_3]^+$. Дальнейший распад этих ионов с элиминированием молекулы CO_2 обуславливает появление сигнала с m/z 55, а при последующем отщеплении молекулы CO и протона образуется структура $[\text{C}_2\text{H}_2]^+$, которой принадлежит сигнал с m/z 26. Такую серию сигналов можно обнаружить в масс-спектрах всех проанализированных соединений (табл. 3.6.).

На примере моноамил- и диамилфталатов можно показать схожесть масс-спектров моно-и диэфиров. Максимальный сигнал принадлежит ионам с массовым числом 149 (рис. 3.7.), сигналы остальных ионов имеют низкую интенсивность (меньше 20%).

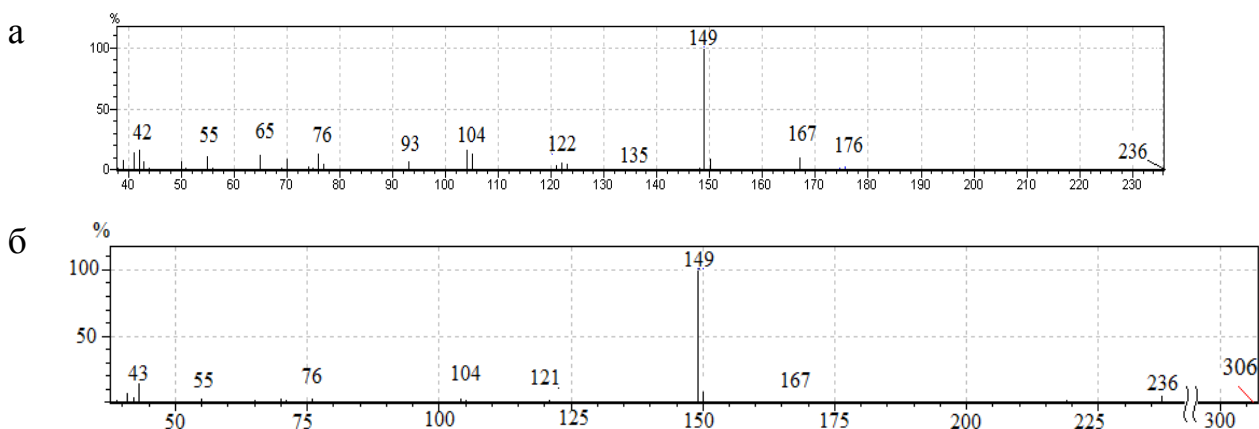


Рис. 3.7. Сравнение масс-спектров ди- и моноалкилфталатов. Масс-спектр моноамилфталата(а) и диамилфталата (б).

Такая особенность масс-спектров эфиров объясняет ненадежность масс-спектрометрической идентификации соединений.

3.2.3 Термическая нестабильность моноалкилфталатов

Для соединений, термически нестабильных и разлагающихся в колонке при газохроматографическом разделении на хроматограммах наблюдаются некоторые особенности, как показано на рисунке 3.8. Если соединение А разлагается с образованием соединения В, а между сигналами этих соединений базовая линия не достигает своего первоначального уровня, образуя некое плато. Примером подобных процессов ($A \rightarrow B$) является термическое разложение α -дiazокарбонильных соединений [41].

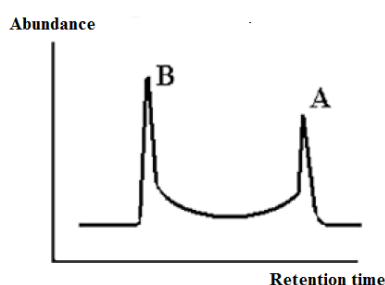


Рис. 3.8. Вид хроматограммы термически нестабильного соединения А, разлагающегося в колонке при газохроматографическом разделении с образованием соединения В.

Такая же картина наблюдается при газохроматографическом анализе монозамещенных эфиров фталевой кислоты, о чем можно судить по характерному плато, продемонстрированному на рис. 3.9. на примере моноэтилфталата (наиболее информативным оказывается SIM-детектирование по m/z 104). При этом в колонке протекает процесс разложения монофталата с образованием фталевого ангидрида (3.8.).

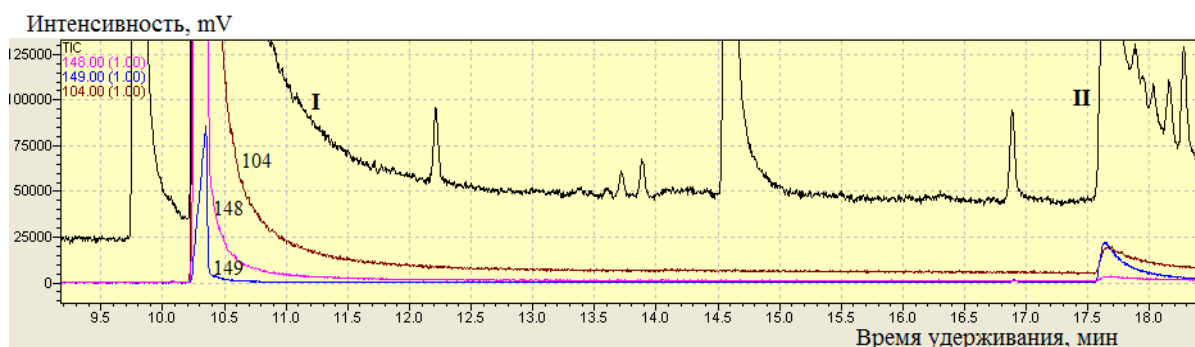
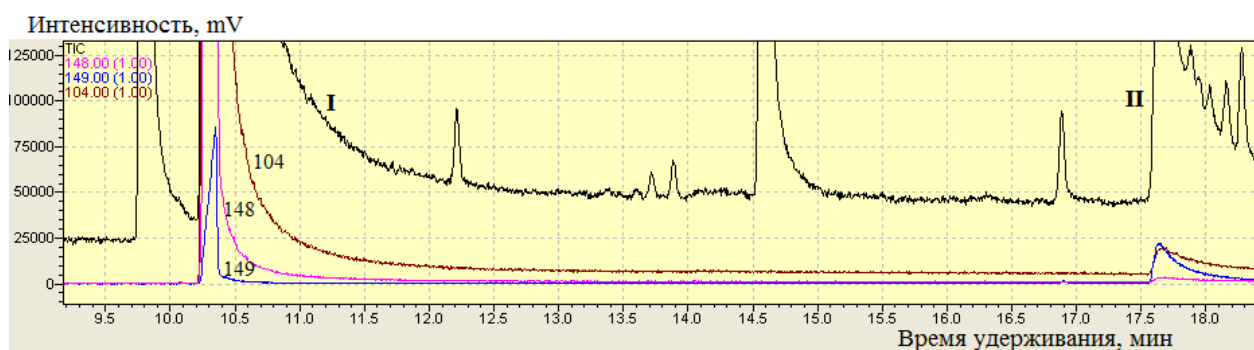
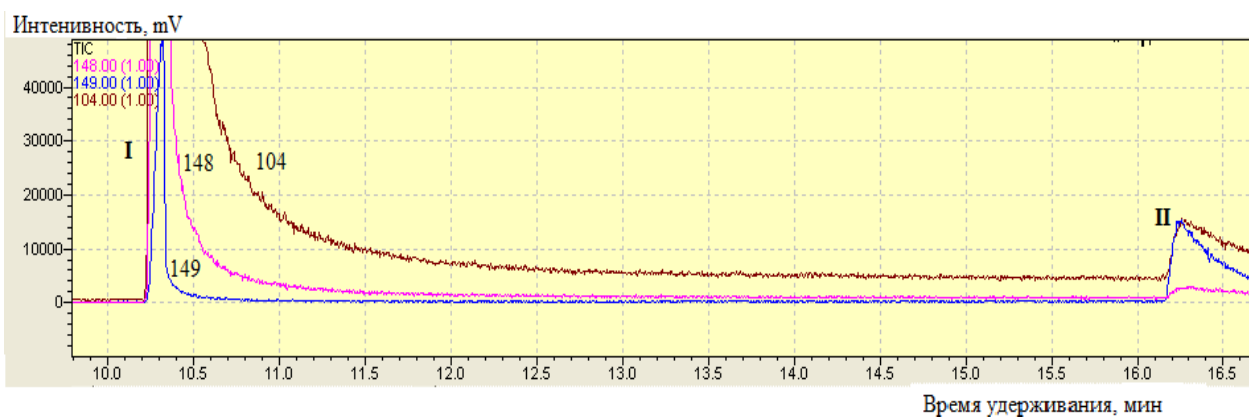
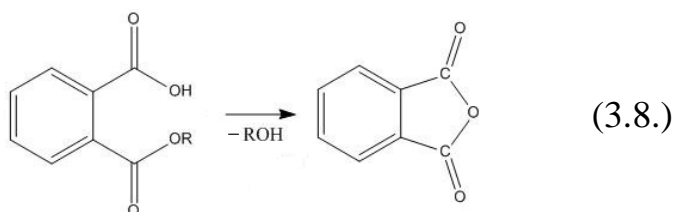


Рис. 3.9. Фрагмент хроматограммы моноэтилфталата. При SIM-детектировании по m/z 104 хорошо видно, что после выхода из колонки пика фталевого ангидрида (I) базовая линия не достигает прежнего уровня и образует некоторое «плато», сохраняющееся вплоть до моноэтилфталата (II). Это однозначно указывает на процесс разложения моноэтилфталата с образованием фталевого ангидрида.



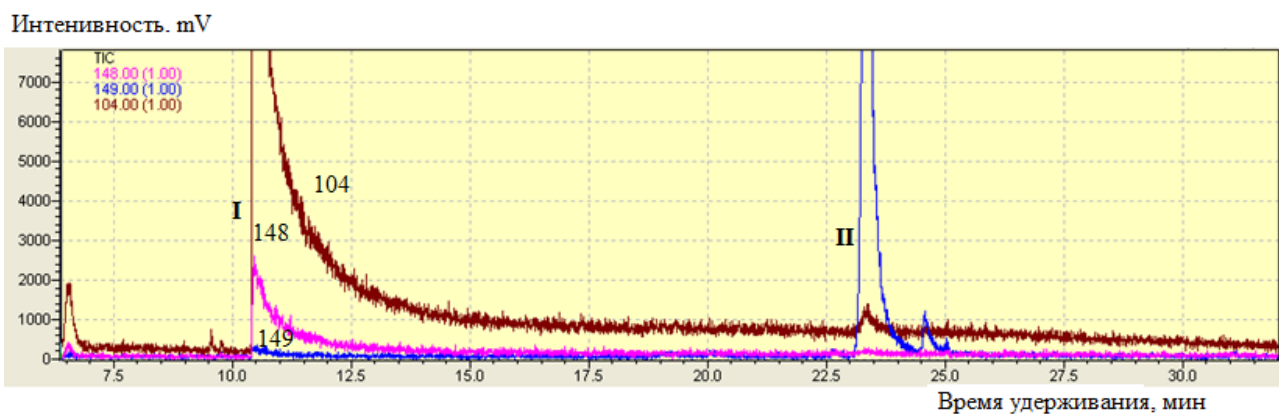


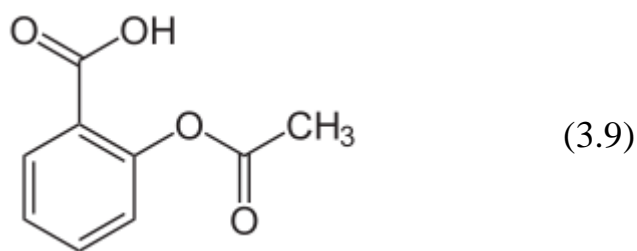
Рис. 3.10. Сравнение фрагментов хроматограмм монометилфталата, моноэтилфталата и моногексилфталата.

Как можно увидеть при сравнении хроматограмм монометилфталата, моноэтилфталата и моногексилфталата (рис. 3.10.), смещение плато относительно первоначального уровня выше в случае эфиров низших спиртов, соответственно можно предположить, что моноэфиры высших спиртов термически более стабильны.

Литературные данные подтверждают протекание процесса (3.8.) для монозамещенных эфиров фталевой кислоты в условиях пиролитического разложения [42]. Температура удерживания монометилфталата, вычисленная по параметрам режима, равна 150°C, а пиролизу соединение подвергается при 125°C [42]. Возможно, данный процесс имеет место не только в случае газохроматографического анализа, но может протекать и в живых организмах.

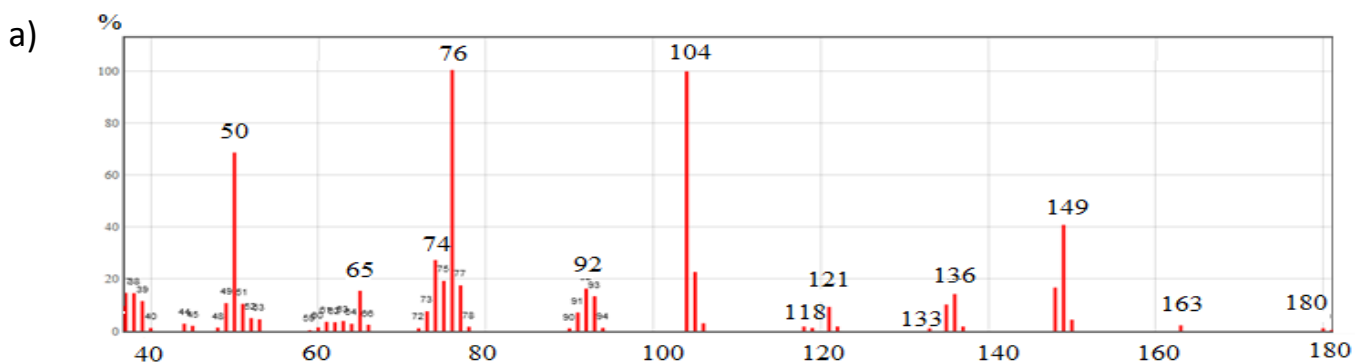
Биохимические же свойства монометилфталата можно сопоставить со свойствами его структурного изомера – ацетилсалициловой кислоты, которая обладает способностью диффундировать через клеточные мембраны. Её терапевтические эффекты связаны с последующим гидролизом с образованием салициловой кислоты. Для монометилфталата значение коэффициента липофильности (определяемый как коэффициент распределения в стандартной системе 1-октанол — вода) $\log P$ составляет

1,13 [43]. Для ацетилсалициловой кислоты (3.9.) значение $\log P$ составляет 1,19.



Величины сопоставимы, из чего следует вывод, что монометилфталат, подобно ацетилсалициловой кислоты, способен проникать сквозь мембрану клеток, сохраняя свою структуру. После этого в результате гидролиза образуется активный фталевый ангидрид, который способен ацилировать азотсодержащие соединения, например, белки, нуклеиновые кислоты и т.д. Это объясняет высокую токсичность моноэфиров [44, 45].

Разложение моноэфира также может вызывать искажение масс-спектров моноалкилфталатов. Так, масс-спектр, представленный в базе данных NIST для монометилфталата (рис. 3.11.а) требует уточнения. Показано, что самыми интенсивными являются сигналы с m/z 76 и 104, что характерно для фталевого ангидрида. Однако если корректно провести вычитание фона, то мы получим масс-спектр, приведенный на рис. 3.11.в. При этом максимальный сигнал принадлежит иону с m/z 149, что типично для всех алкилфталатов.



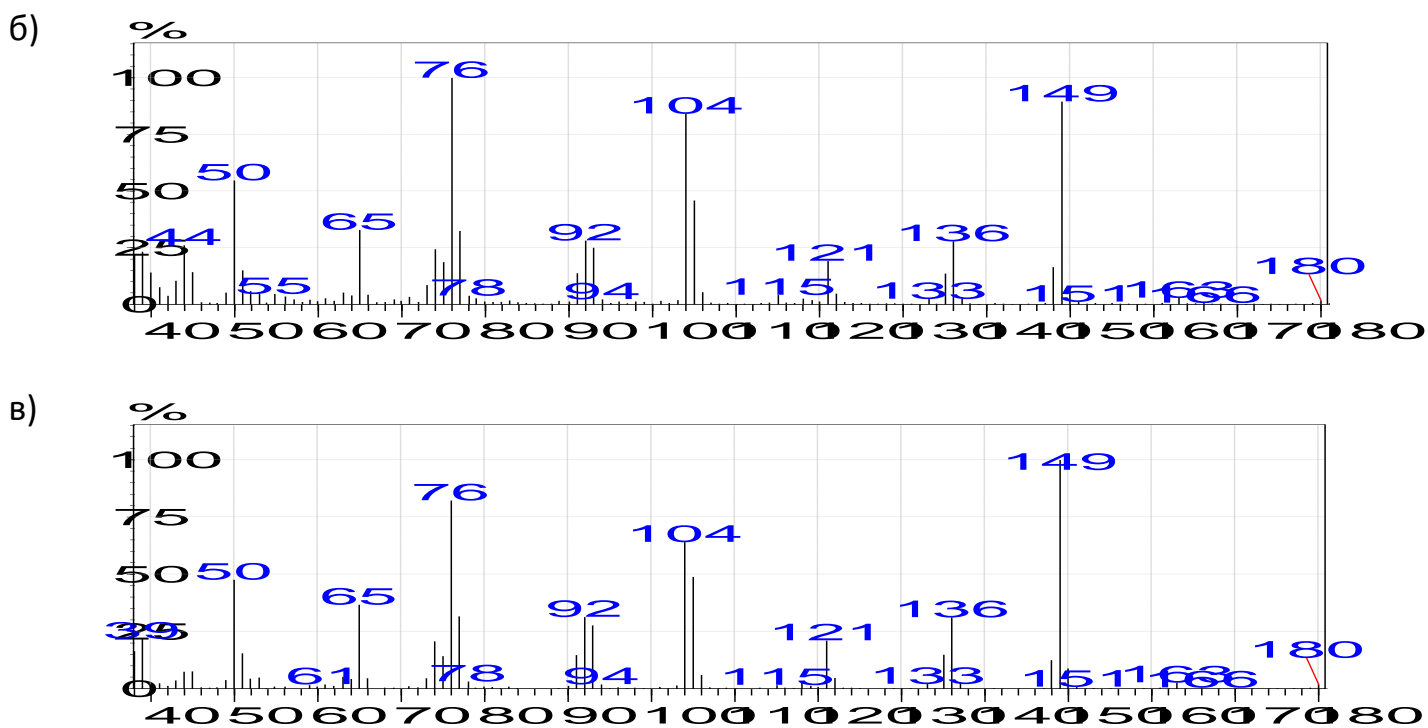


Рис. 3. 11. Масс-спектр монометилфталата, приведенный в базе данных NIST [30] (а), и полученный нами без вычитания фона (б), и при вычитании фона (в)

Таким образом была охарактеризована новая группа соединений, для 32 монозамещенных эфиров получены стандартные масс-спектры и индексы удерживания на стандартных неполярных неподвижных фазах. Эти данные позволяют существенно снизить вероятность ошибок идентификации моноэфиров фталевой кислоты. Для моноэфиров фталевой и малеиновой кислот были предложены уравнения, связывающие их индексы удерживания с параметрами удерживания лучше охарактеризованных дизамещенных эфиров. С их помощью можно проверять данные, полученные впервые, а также предсказывать индексы удерживания соединений, неизученных ранее. При этом уравнения, в отличие от аддитивных схем, связывающих индексы удерживания с числом атомов углерода в радикале, применимы к эфирам, содержащим в спиртовом остатке разветвления.

Также был установлен неизвестный ранее факт термической нестабильности гомологов этого ряда, дополнительно осложняющий их

газохроматографический и хромато-масс-спектрометрический анализ. На основании этого высказаны обоснованные предположения о механизме токсического действия моноалкилфталатов.

5. Выводы и результаты

1. На примерах серий моно- и диэфиров бензол-1,2-дикарбоновой (фталевой) и *цис*-бутендиовой (малеиновой) кислот подтверждено значительное сходство масс-спектров моно- и диэфиров дикарбоновых кислот, что объясняет обнаруживаемое в литературе большое число ошибок масс-спектрометрической идентификации фталатов в разных объектах;
2. Для исключения ошибок идентификации масс-спектры соединений этих групп предложено дополнять газохроматографическими индексами удерживания на стандартных неполярных неподвижных фазах. Моноэфиры фталевой кислоты дополнительно охарактеризованы индексами удерживания в обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии;
3. Впервые установлено, что моноэфиры фталевой кислоты (особенно простейшие гомологи) термически нестабильны в условиях газохроматографического анализа и частично разлагаются с образованием фталевого ангидрида. Этот факт позволил 1) объяснить и устранить причину искажений масс-спектров таких эфиров в современных базах данных и 2) проинтерпретировать большую токсичность монозамещенных эфиров фталевой кислоты по сравнению с диэфирами;
4. Показано, что одной из самых эффективных форм представления и интерпретации хроматографических индексов удерживания моноэфиров дикарбоновых кислот является их сопоставление с данными для лучше охарактеризованных диэфиров в форме соответствующих уравнений линейной регрессии. Это позволяет контролировать правильность экспериментальных данных и, при необходимости, вычислять индексы эфиров одной из групп по данным для другой;

5. На примере моно- и дибутилфталатов охарактеризована зависимость их индексов удерживания в обращенно-фазовой ВЭЖХ от содержания органического модификатора (С, ацетонитрил) в составе элюента. Большие отрицательные значения угловых коэффициентов этой зависимости ($\partial RI/\partial C$) обусловлены гидратацией аналитов в водных растворах, что объясняет относительно невысокую воспроизводимость индексов удерживания в ВЭЖХ. Вместе с тем, эти же значения могут рассматриваться как отличительный признак для групповой идентификации способных к гидратации соединений.

Список литературы

1. Fakhretdinova L.N., Zenkevich I.G. Features of gas chromatographic analysis of low volatile dicarboxylic acids. Тез. докладов IX Междунар. конф. «Менделеев-2015» СПб.: 2015, 7-9 апр.
2. Фахретдинова Л.Н., Зенкевич И.Г. Особенности газохроматографического анализа алифатических двухосновных карбоновых кислот. Тез. докладов. Всерос. конф. «Теория и практика хроматографии» Самара.: 2015, 24-29 мая.
3. Зенкевич И. Г., Фахретдинова Л.Н. Особенности газохроматографического анализа алифатических дикарбоновых кислот // Аналитика и контроль. 2015. Т. 19. № 1. С. 52-58.
4. Зенкевич И. Г., Фахретдинова Л.Н. Возможности газохроматографического определения труднолетучих дикарбоновых кислот // Ж. аналит. химии. 2016. Т. 71, № 4. С. 420–427.
5. Mazzeo P., Di Pasquale D., Ruggieri F., Fanelli M., D'Archivio A.A., Carlucci G. HPLC with diode-array detection for the simultaneous determination of di(2-ethylhexyl)phthalate and mono(2-ethylhexyl)phthalate in seminal plasma // Biomed. Chromatogr. 2007. Vol. 21 N. 11. P.1166-1171.
6. Pérez Feás C., Barciela Alonso M.C., Peña-Vázquez E., Herbello Hermelo P., Bermejo-Barrera P. Phthalates determination in physiological saline solutions by HPLC-ES-MS // Talanta. 2008. Vol. 75. N. 5. P.1184-1189.
7. Kueseng P., Thavarungkul P., Kanatharana P. Trace phthalate and adipate esters contaminated in packaged food // J. Environ. Sci. Health. Part B. 2007. Vol. 42. P. 569–576.

8. Патент US3696005 A Purification of 2,2-dimethyl-1,3-propanediol monohydroxypivalic ester by distillation with sulphuric or sulphonic acid W. Fuchs, F. Merger 3 окт 1972
9. Hauser R., Calafat A.M. Phthalates and human health // *Occ. Env. Med.* 2005. Vol. 62. P. 806–818.
10. Tyler C.R., Jobling S., Sumpter J.P. Endocrine disruption in wildlife: a critical review of the evidence // *Crit. Rev. Toxicol.* 1998. Vol. 28. N. 4. P. 319–361.
11. Latini G., Verrotti A., De Felice C. Di-2-ethylhexylphthalate and endocrine disruption: a review // *Curr. Drug Targets Immune Endocr. Metabol. Disord.* 2004. N. 4. P. 37–40.
12. Sharpe R.M. Hormones and testis development and the possible adverse effects of environmental chemicals // *Toxicol. Lett.* 2001. Vol. 120. P. 221–232.
13. Colón I., Caro D., Bourdony C.J., Rosario O. Identification of Phthalate esters in the serum of young Puerto Rican girls with premature breast development // *Environ. Health Perspect.* 2000. Vol. 108. P. 895–900.
14. Dalgaard M., Nellemann C., Lam H.R., Sorensen I.K., Ladefoged O The acute effects of mono(2-ethylhexyl)phthalate (MEHP) on tests of prepubertal Wistar rats /. // *Toxicol. Lett.* 2001. Vol. 122. P. 69–79.
15. Park J.D., Habeebu S.S.M., Klaassen C.D. Testicular toxicity of di-(2-ethylhexyl)phthalate in young Sprague–Dawley rats // *Toxicology.* 2002. Vol. 171. P. 105–115.
16. Ichimura T., Kawamura M., Mitani A. Co-localized expression of FasL, Fas, caspase-3 and apoptotic DNA fragmentation in mouse testis after oral exposure to di(2-ethylhexyl)phthalate // *Toxicology.* 2003. Vol. 194. P 35– 42.

17. ATSDR, Toxicological profile for di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP), Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA, 2002. URL <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/TP.asp>. Дата обращения: апрель 2016 г.
18. Thyssen B., Morris P.L., Gatz M., Bloch E. The effect of mono(2-ethylhexyl)phthalate on Sertoli cell transferrin secretion in vitro // J. Toxicol. Applied Pharmacol. 1990. Vol. 106. P. 154–157.
19. Richburg J.H., Boekelheide K. Mono-(2-ethylhexyl)phthalate rapidly alters both Sertoli cell vimentin filaments and germ cell apoptosis in young rat testes // Toxicol. Applied Pharmacol. 1996. Vol. 137. P. 42–50.
20. 13 Ema M., Amano H., Itami T., Kawasaki. H. Teratogenic evaluation of di-n-butyl phthalate in rats // Toxicol. Lett. 1993. Vol. 69. P. 197-203.
21. Ema M., Amano H., OgawaY. Characterization of the developmental toxicity of di-n-butyl phthalate in rats // Toxicology. 1994. Vol. 86. P. 163-174.
22. Hopf N.B., Berthet A., Vernez D., Langard E., Spring P., Gaudin R. Skin permeation and metabolism of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) // Toxicol Lett. 2014. Vol. 224. N.1. P. 47-53.
23. Scientific Committee on Consumer Products, Health & Consumer Protection Directorate-General, European Commission, Opinion on phthalates in cosmetic products. URL http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_106.pdf Дата обращения: апрель 2016 г.
24. Sjoberg P., Egestad B., Klasson-Wehler E. Gustafsson J. Glucuronidation of mono(2-ethylhexyl)phthalate. Some enzyme characteristics and inhibition by bilirubin // Biochem. Pharmacol. 1991. Vol. 41. P. 1493–1496.
25. Koch H.M., Bolt H.M., Angerer J. Di(2-ethyhexyl)phthalate (DEHP) metabolites in human urine and serum after a single oral dose of deuterium-labelled DEHP // Arch. Toxicol. 2004. Vol. 78.P. 123–130.

26. Shiota K., Mima S. Assessment of the teratogenicity of di(2-ethylhexyl)phthalate and mono(2-ethylhexyl)phthalate in Mice // Arch. Toxicol. 1985. Vol. 56. P. 263–266.
27. Гангакхедкар А., Даи С., Зеранг Н., Вирсик П. А. (US) URL <http://www.findpatent.ru/patent/255/2554347.html> Дата обращения: апрель 2016 г.
28. Лянг У. Неопубликованные данные, включенные в базу [30].
29. Kim N.-S., Lee D.-S. Characterization of Rosemary fragrances by solid phase microextraction and GC-MS // Analyt. Sci. 2001. Vol. 17. P. a383-a386. (Suppl.).
30. The NIST 14 Mass Spectral Library (NIST11/2014/EPA/NIH). Software/Data Version (NIST14); NIST Standard Reference Database, Number 69, June 2014. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899; URL: <http://webbook.nist.gov>. Дата обращения апрель 2016 г.
31. Vinogradov B.A. Production, composition, properties and application of essential oils, 2004, retrieved from <http://viness.narod.ru>.
32. Заикин В.Г. Неопубликованные данные, включенные в базу [30].
33. Zenkevich I.G Prevention of a dangerous tendency in the presentation of result of CG-MS identification // Anal. Bioanal. Chem. 2013. Vol. 405. P. 3075–3083.
34. Dev. V., Das A.K. Hossian M.A., Rahman S.M.M. Chemical composition of *Ocimum basilicum* Leaves // J. Sci. Res. 2011. Vol. 3. N. 1. P. 197-206.
35. Зенкевич И.Г., Ротару К.И., Селиванов С.И., Костиков Р.Р. Дискуссионные методы определения диалкилфталатов в различных объектах // Вестник СПбГУ. 2015. Сер. 4. Т. 2 (60). Вып. 4. С. 386-394.

36. Wolski T., Tambor K., Rybak-Chmielewska H., Kędzia B. Identification of Honey Volatile Components by Solid Phase Microextraction (SPME) and Gas chromatography/Mass Spectrometry // J. Apicultural Science. 2006. Vol. 50 N. 2. P. 115-126.
37. Adebayo M. A., Lawal O. A., Sikiru A. A., Ogunwande I. A., Avoseh O. N. Chemical Constituents and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Senna podocarpa* (Guill. et Perr.) Lock // American J. Plant Sciences. 2014. N. 5. P. 2448-2453.
38. Zenkevich I.G., Kochetova M.V., Larionov O.G., Revina A.A., Kosman V.M. Retention indices as the most reproducible retention parameters in reversed phase HPLC. Calculation for hydrophilic phenolic compounds using reference n-alkyl phenyl ketones // J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol. 2005. Vol. 28. N. 4. P. 2141-2162.
39. Zenkevich I. G., Gushchina S. V. Anomalous properties of flavonoids in reversed phase high performance liquid chromatography // J. Phys. Chem. A. 2011. Vol. 85. N. 9. P. 1641-1646.
40. С. Бенсон Основы химической кинетики под ред В.М. Сахарова. М.:Мир. 1964. С. 99.
41. Kornilova T.A., Ukolov A.I., Kostikov R.R., Zenkevich I.G. A simple criterion for gas chromatography/mass spectrometric analysis of thermally unstable compounds, and reassessment of the by-products of alkyl diazoacetate synthesis // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2013. Vol. 27. N. 3 P. 461-466.
42. Ritchie P. D. Studies in Pyrolysis. Part III. The pyrolysis of carbonic and sulphurous esters // J. Chem. Soc. 1935. P. 1054-1061.
43. Leo A. The octanol-water partition coefficient of aromatic solutes: the effect of electronic interactions, alkyl chains, hydrogen bonds, and ortho-substitution // J. Chem. Soc. Perkin Trans. II 1983. P. 825-838.

44. Зенкевич И. Г., Фахретдинова Л.Н. Хромато-масс-спектрометрическое обоснование токсичности фталатов. Тез. докл. VI Всерос. конф. «Масс-спектрометрия и её прикладные проблемы». М.: 2015. 12-17 окт.
45. Зенкевич И. Г., Фахретдинова Л.Н. Термическая нестабильность моноалкиловых эфиров фталевой кислоты в условиях газохроматографического разделения // Аналитика и контроль. 2015. Т. 19. № 2. С. 175.